MIKROCHIMICA ACTA

ORGAN FÜR REINE UND ANGEWANDTE MIKROCHEMIE

UNTER MITWIRKUNG VON

E. ABDERHALDEN-HALLE • E. ABRAHAMCZIK-WIEN • F. ALTEN-BERLIN • S. AUGUSTI-SALERNO • A. J. BAILEY-ST. PAUL • R. BERG-KÖNIGSBERG • E. BEUTEL-WIEN • G. BLIX-UPSALA • J. H. DE BOER-EINDHOVEN • M. BOETIUS-DRESDEN • P. BOGDAN-JASSY • H. BORSOOK-PASADENA • E. R. CALEY-PRINCETON • N. D. COSTEANU-CERNAUTI • O. DAFERT-WIEN • P. W. DANCKWORTT-HANNOVER • G. DENIGÈS-BORDEAUX • H. J. DEUTICKE-BONN • W. DIEMAIR-MÜNCHEN • E. DITTLER-WIEN • R. DWORZAK-WIEN • E. EEGRIWE-RIGA • R. EHRENBERG-GÖTTINGEN • E. EPSTEIN-WIEN • J. ERDÖS-BUDAPEST • H. v. EULER-STOCKHOLM • R. FABRE-PARIS • F. FALTIS-WIEN • A. FISCHER-KOPENHAGEN • H. FISCHER-BERLIN • C. H. FISKE-CAMBRIDGE-BOSTON • A. FRANKE-WIEN • CL. FROMAGEOT-LYON • L. FUCHS-WIEN • N. H. FURMAN-PRINCETON • M. FURTER-ZÜRICH • A. GLAZUNOV-PRIBRAM • E. GLEDITSCH-BLINDERN-OSLO • W. C. DE GRAAFF-UTRECHT • R. GRENGG-WIEN • L. HACKSPILL-PARIS • M. HAITINGER-WIEN • L. T. HALLETT-ROCHESTER • F. HAUROWITZ-PRAG • PH. B. HAWK-NEW YORK • K. HÖFLER-WIEN • H. HOLTER-KOPENHAGEN • L. VAN ITALLIE-LEIDEN • H. JANSCH-WIEN • G. JOACHIMOGLOU-ATHEN • P. KARRER-ZÜRICH • A. KLEMENC-WIEN • J. KNOP-BRÜNN • E. KROUPA-WIEN • S. KÜHNEL-HAGEN-KOPENHAGEN • H. LEITMEIER-WIEN • K. LINDERSTRØM-LANG-KOPENHAGEN • G. G. LONGINESCU-BUCURESTI • G. LUNDE-STAVANGER • G. E. F. LUNDELL-WASHINGTON • C. MAHR-MARBURG a/LAHN • K. L. MALJAROFF-MOSKAU • H. MARK-WIEN • A. MARTINI-ROSARIO • A. MAYRHOFER-WIEN • J. MEYER-BRESLAU • G. v. MIKÓ-DEBRECEN • A. v. MURALT-BERN • K. NOSAKA-TOKIO • P. RÂY-CALCUTTA • L. ROSENTHALER-BERN • O. RUFF-BRESLAU • L. RUZICKA-ZÜRICH • K. SAKAGUCHI-TOKIO • E. B. SANDELL-MINNEAPOLIS • T. SASAKI-TOKIO • G. SCHENCK-HEIDELBERG • H. SCHMALFUSS-HAMBURG • A. SCHÖBERL-WÜRZBURG • E. SCHULEK-BUDAPEST • J. SCHWAIBOLD-MÜNCHEN • M. SHIOIRI-TOKIO • G. F. SMITH-URBANA • S. P. L. SÖRENSEN-KOPENHAGEN • G. SPACU-CLUJ • E. SPÄTH-WIEN • L. W. STAPLES-OREGON • E. STARKENSTEIN-PRAG • A. J. STEENHAUER-LEIDEN • A. STOCK-BERLIN • N. STRAFFORD-MANCHESTER • R. STREBINGER-WIEN • L. v. SZEBELLÉDY-BUDAPEST • A. v. SZENT-GYÖRGYI-SZEGED • H. TAUBER-FLORENCE • TH. A. THOMSON-DUNEDIN • V. M. TRIKOJUS-SIDNEY • KW. F. TSENG-SHANGHAI • R. UZEL-PRAG • S. E. VEIBEL-KOPENHAGEN • F. VIEBÖCK-WIEN • E. WALDSCHMIDT-LEITZ-PRAG • E. M. P. WIDMARK-LUND • J. H. YOE-VIRGINIA • F. ZARIBNICKY-WIEN • R. ZEYNEK-PRAG • C. ZENGHELIS-ATHEN

REDIGIERT VON

H. K. BARRENSCHEEN-WIEN · G. BERTRAND-PARIS · H. V. A. BRISCOE-LONDON · H. EPPINGER-WIEN · F. FISCHLER-MÜNCHEN · F. HECHT-WIEN · I. M. KOLTHOFF-MINNEAPOLIS · C. W. MASON-ITHACA · J. W. MATTHEWS-LONDON · C. J. VAN NIEUWENBURG-DELFT · I. K. PARNAS-LEMBERG · R. WASICKY-WIEN · P. WENGER-GENF · H. H. WILLARD-ANN ARBOR · H. ZANGGER-ZÜRICH

ORGAN DER

ÖSTERREICHISCHEN MIKROCHEMISCHEN GESELLSCHAFT
UND DES MICROCHEMICAL CLUB (GREAT BRITAIN)

BAND III, DRITTES HEFT

MIT 25 TEXTABBILDUNGEN

(ABGESCHLOSSEN AM 1. JUNI 1938)

VERLAG VON JULIUS SPRINGER IN WIEN · 1938

Mikrochim. Acta

Die

Mikrochimica Acta

erscheinen zwanglos in Heften, die in kurzer Folge zur Ausgabe gelangen. Je 3—4 Hefte bilden einen Band. Der Preis des Bandes beträgt RM 36.—.

In der Regel können Originalarbeiten nur Aufnahme finden, wenn sie nicht mehr als einen Druckbogen umfassen. Sie werden mit dem Datum des Eingangs versehen und der Reihe nach veröffentlicht, sofern die Verfasser die Korrekturen rechtzeitig erledigen. Abhandlungen polemischen Inhalts werden nur dann zugelassen, wenn sie tatsächliche Richtigstellungen enthalten. Die Entscheidung über die Aufnahme steht allein der Schriftleitung zu.

Manuskriptsendungen werden erbeten an die

Schriftleitung der „Mikrochimica Acta"
Wien I, Schottengasse 4.

Es wird ausdrücklich darauf aufmerksam gemacht, daß mit der Annahme des Manuskriptes und seiner Veröffentlichung durch den Verlag das ausschließliche Verlagsrecht für alle Sprachen und Länder an den Verlag übergeht, und zwar bis zum 31. Dezember desjenigen Jahres, das auf das Jahr des Erscheinens folgt. Es können somit grundsätzlich nur Arbeiten aufgenommen werden, die vorher weder im Inlande noch im Auslande veröffentlicht worden sind und die auch nachträglich nicht anderweitig zu veröffentlichen sich der Verfasser verpflichtet.

Die Verfasser erhalten eine *Fahnenkorrektur*; Revisionen können grundsätzlich nicht geliefert werden. Bei Beiträgen von in weit entfernten oder überseeischen Ländern wohnenden Mitarbeitern werden die Korrekturen dieser Beiträge im Interesse eines beschleunigten Erscheinens von der Schriftleitung gelesen. Wird jedoch die Übersendung von Fahnenabzügen zur Korrektur gewünscht, so muß die sich daraus ergebende spätere Veröffentlichung von dem Verfasser in Kauf genommen werden.

Die Verfasser erhalten außer einem Unkostenersatz für ihre Arbeit 75 Sonderdrucke ihrer Arbeit unentgeltlich.

Im Interesse der unbedingt gebotenen Sparsamkeit wollen die Herren Verfasser auf knappste Fassung ihrer Arbeiten und Beschränkung des Abbildungsmaterials auf das unbedingt erforderliche Maß bedacht sein und zu diesem Zwecke die Aufnahmebedingungen, die auf der IV. Umschlagseite gedruckt sind, beachten.

Verlag von Julius Springer in Wien I

III. Band — Inhaltsverzeichnis — 3. Heft

Seite

Abrahamczik, E., und **F. Blümel.** Halogen-Mikrobestimmung in organischen Substanzen mit Hilfe von Filterbechern 185

Rosenthaler, L. Zur analytischen Verwendung des Kakothelins..... 190

Herrmann, H. Über die Reaktion der Metaphosphorsäure mit basischen Triphenylmethanfarbstoffen 193

Frehden, O., und **K. Fürst.** Die Anwendung der Tüpfelanalyse zur Untersuchung von Heilmitteln (V) 197

Waelsch, H., und **A. Dimter.** Über die Veraschung von organischem Material mit Brom-Salpetersäure..... 201

Sandell, E. B., Dorothy M. Wishnick and **Ethel L. Wishnick.** Detection of Zinc with β-Naphthoquinoline and Thiocyanate..... 204

Fortsetzung des Inhaltsverzeichnisses siehe III. Umschlagseite

Aus dem biologischen Institut der *Carlsberg*-Stiftung, Kopenhagen.
Vorstand: Dr. *A. Fischer*.

Über die Reaktion der Metaphosphorsäure mit basischen Triphenylmethanfarbstoffen.

Von

H. Herrmann.

(Eingegangen am 10. März 1938.)

Die Metaphosphorsäure ist seit langer Zeit als eiweißfällendes Reagens bekannt. Kürzlich konnte wahrscheinlich gemacht werden, daß die Metaphosphorsäure bei der Fällung an die basischen Gruppen des Eiweißmoleküls gebunden wird.[1]

In diesem Zusammenhang ist die Beobachtung für uns von einem gewissen Interesse, daß auch basische Substanzen, die einer ganz anderen Körperklasse angehören, mit Metaphosphorsäure schwerlösliche Verbindungen bilden. Der analytische Wert dieser Beobachtung liegt darin, daß diese Farbstoffe zum Teil auch mit sehr geringen Metaphosphorsäuremengen charakteristische Reaktionsprodukte liefern, während Orthophosphorsäure keine der folgenden Reaktionen zeigt. Dagegen ist ein ähnliches Verhalten eines anderen Eiweißfällungsmittels, Pikrinsäure, gegen basische Farbstoffe, wohlbekannt.

In der Tabelle I sind die entsprechenden experimentellen Daten zusammengestellt. Die Angaben beziehen sich auf wäßrige Lösungen. Die Metaphosphorsäurelösungen wurden stets frisch aus glasiger Metaphosphorsäure „p. a. Kahlbaum" hergestellt. Die Farbstoffe waren Handelspräparate.[2] Das Kristallviolett war das Mercksche „p. a."-Präparat. Die Reaktion wurde durch Vermischen gleicher Teile der Farbstoff- bzw. der Metaphosphorsäurelösung hervorgerufen. Die Fluoreszenz wurde bei Tageslicht registriert, die Niederschlags- und Kristallbildung unter dem Mikroskop bei 250facher Vergrößerung.

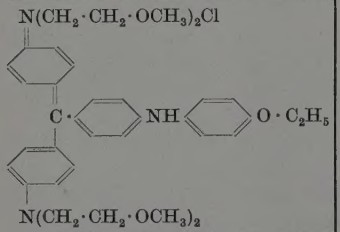
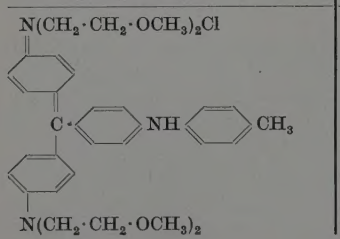
Die Reaktionen treten in 2 bis 20 Minuten ein. Zuerst nimmt man die Fluoreszenzen wahr, erst später die Niederschläge oder Kristalle.

---

[1] *H. Herrmann* und *G. Perlmann*: Nature **140**, 807 (1937).

[2] Für die Überlassung der beiden unbenannten Farbstoffe bin ich der Firma I. G. Farbenindustrie A.-G. zu Dank verpflichtet.

Tabelle 1.

Farbstoff	Farbstoffkonzentration	Grenzkonzentration	Erfassungsgrenze in γ	Reaktion
Malachitgrün	$^1/_{500}$ m	—	—	Keine
Methylgrün	$^1/_{500}$ m	—	—	Keine
Fuchsin	$^1/_{500}$ m	$^1/_{4000}$ m	10	Braungrüne Fluoreszenz, Niederschlagsbildung
Kristallviolett	$^1/_{500}$ m	$^1/_{1600}$ m	3	Stäbchenförmige Kristalle (siehe Abb. 1)
Viktoriablau	$^1/_{5000}$ m	$^1/_{3200}$ m	10	Grünliche Fluoreszenz, amorpher Niederschlag
	$^1/_{5000}$ m	$^1/_{1600}$ m	15	Grüne Fluoreszenz, morgensternförmige Kristalle
	$^1/_{500}$ m	$^1/_{400}$ m	60	Grüne Fluoreszenz, Abscheidung in öligen Tropfen

Um einen Anhaltspunkt für die Beschaffenheit der Reaktionsprodukte zu gewinnen, wurde eine größere Menge derjenigen Kristalle hergestellt und analysiert, die bei dem Zusatz von Metaphosphorsäure zu Kristallviolett entstehen.

Darstellung: 5 Teile einer 0,1%igen Lösung von Kristallviolett werden mit 4 Teilen einer $^1/_{10}$ m-Lösung von Metaphosphorsäure langsam und

unter Umrühren versetzt. Nach einigen Minuten kommt es zur Abscheidung metallisch glänzender Kristalle (s. Abb. 1), die im Mikroskop dunkelblau erscheinen. Nach 12 Stunden wird abzentrifugiert. Zur Umkristallisation werden die feuchten Kristalle mit so wenig Methylalkohol versetzt, als eben zur Lösung nötig ist. Dann wird Wasser zugesetzt, bis die erste Trübung auftritt, und der Methylalkohol im Vakuum abgedampft. Nach der Umkristallisation werden die Kristalle bei 80° im Vakuum über Phosphorpentoxyd getrocknet.

Abb. 1. Kristalle von Kristallviolett-Metaphosphat (500 ×).

Löslichkeit: In 1n-Salzsäure sehr leicht, dabei Farbumschlag in gelb. In Wasser schwer, in Petroläther, Benzol, Toluol, Xylol unlöslich. In Aceton und Amylalkohol löslich, leicht in Äthyl-, sehr leicht in Methylalkohol löslich.

Zwischen 150 und 200° sintert die Substanz zu einer metallisch glänzenden, zähen Masse zusammen, bei 280° tritt Zersetzung ein.

Analyse: Größere, mit der gewöhnlichen analytischen Waage gut abwägbare Mengen wurden in einem Meßkolben in Methylalkohol gelöst und auf ein bestimmtes Volumen aufgefüllt. Davon wurden entsprechende Mengen in Mikrokjeldahlkolben einpipettiert und der Methylalkohol im Vakuum abgedampft. Dann wurde der Stickstoffgehalt mit Mikrokjeldahl und der Phosphorgehalt kolorimetrisch nach *K. Lohmann* und *L. Jendrassik*[1] bestimmt. Von jeder Lösung wurden Doppelbestimmungen ausgeführt.

Tabelle 2.

Einpipettiert entsprechend mg	Gefunden mg N	% N	Einpipettiert entsprechend mg	Gefunden mg P	% P
4,92	0,381	7,74	1,85	0,158	8,54
	0,377	7,66		0,157	8,49
4,08	0,316	7,74	4,92	0,405	8,23
	0,320	7,84		0,412	8,37

Die Verbindung enthält kein Chlor. Den obenstehenden Analysenwerten würde am besten eine Verbindung aus 2 Molekülen Kristallviolett, 3 Molekülen Metaphosphorsäure und 8 Molekülen Kristallwasser entsprechen (7,61% N, 8,33% P).

[1] *K. Lohmann* und *L. Jendrassik*: Biochem. Ztschr. **178**, 418 (1928).

Eine ähnlich gebaute Verbindung aus 2 Molekülen Kristallviolett und 3 Molekülen Platin(IV)-chlorid wurde schon von *A. Hoffmann*[1] beschrieben. Man kann aus dem Befund nicht sagen, ob an der Reaktion nur die einfache Metaphosphorsäure oder auch ein polymerisiertes Produkt teilnimmt. An der Verbindung mit Eiweiß scheint nur die Monometaphosphorsäure teilzunehmen.

Zusammenfassung.

Es wird die Reaktion zwischen Metaphosphorsäure und einigen Triphenylmethanfarbstoffen beschrieben. Eines der Reaktionsprodukte wird in kristallisierter Form dargestellt und analysiert.

Summary.

The reaction between metaphosphoric acid and some dyestuffs of the triphenylmethan series is described. One of the reaction products is prepared in form of crystalls and analysed.

Résumé.

L'auteur décrit la réaction de l'acide métaphosphorique avec plusieurs colorants de triphénylméthane, ainsi que la formation d'un de ces produits de réaction cristallisé, dont il fait l'analyse.

[1] *A. Hoffmann*: Ber. Dtsch. chem. Ges. **18**, 767 (1885).

Aus dem Pharmakognostischen Institut der Universität Wien.

Die Anwendung der Tüpfelanalyse zur Untersuchung von Heilmitteln (V).

Über den Nachweis kleiner Mengen primärer aromatischer Amine.

Von

O. Frehden und **K. Fürst.**

(Eingegangen am 11. März 1938.)

Die Einwirkung von Schwefelkohlenstoff auf Anilin und andere primäre Amine, die in glatter Reaktion zunächst zu symmetrisch disubstituierten Thioharnstoffen führt, läßt sich mit geringfügigen Abänderungen für einen Mikronachweis primärer Amine verschiedener aromatischer Ringsysteme verwenden. Der Nachweis benutzt zur Erkennung der primären aromatischen Amine den bei der Reaktion gemäß der bekannten Gleichung

$$CS_2 + 2\,ArNH_2 \rightarrow C(=S)(NHAr)_2 + H_2S$$

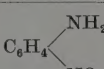
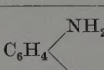
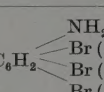
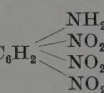
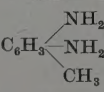
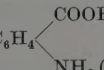
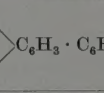
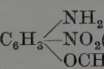
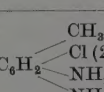
entstehenden Schwefelwasserstoff.

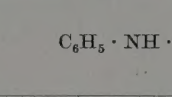
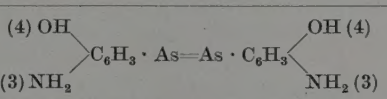
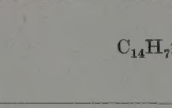
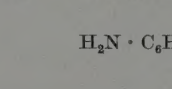
Da bei primären aliphatischen Aminen ein derartiger Reaktionsverlauf unter Freiwerden von Schwefelwasserstoff nicht stattfindet, kann dieser Umstand zur raschen Unterscheidung dieser beiden Körperklassen herangezogen werden.

Trotz der verhältnismäßig einfachen Reaktionsfolge und der Durchsichtigkeit der Umsetzung läßt sich die bekannte *Gattermann*sche[1] Vorschrift für die präparative Herstellung der Thioharnstoffe nicht ohne weiteres mikroanalytisch verwerten. Man erhält nämlich bei Ausführung einer Blindreaktion durch Erhitzen von Schwefelkohlenstoff mit Alkohol und pulverisiertem Ätzkali ohne Zusatz primärer aromatischer Amine nach dem Abdunsten der flüchtigen Bestandteile im alkalischen Rückstand merkliche Mengen von Sulfidion. Dies dürfte auf die Bildung von Salzen der Trithiokohlensäure zurückzuführen sein, die einer nachträglichen Zersetzung unter Sulfidbildung unterliegen. Selbstverständlich kann für den analytischen Nachweis die von *A. Hugershoff*[2] vorge-

[1] *L. Gattermann*: Praxis des organischen Chemikers. 23. Aufl. Berlin 1933.
[2] *A. Hugershoff*: Ber. Dtsch. chem. Ges. **32**, 2245 (1899).

Erfassungsgrenzen einiger primärer Amine.

Substanz	Formel	Erfassungsgrenze in γ
Anilin	$C_6H_5 \cdot NH_2$	4,0
o-Nitroanilin		3,0
m-Nitroanilin		3,2
Sulfanilsäure	$H_2N \cdot C_6H_4 \cdot SO_3H$	2,8
Tribromanilin		1,6
Trinitroanilin		2,0
o-Toluylendiamin		1,0
p-Aminodiphenyl	$NH_2 \cdot C_6H_4 \cdot C_6H_5$	1,5
Anthranilsäure		1,2
Benzidin	$NH_2 \cdot C_6H_4 \cdot C_6H_4 \cdot NH_2$	1,6
o-Dianisidin		3,0
o-Nitro-p-Anisidin		1,5
4,5-Diamino-2-chlor-toluol		1,0

Substanz	Formel	Erfassungsgrenze in γ
Aminonitrodiphenylamin.....		2,4
Salvarsan		4,0
α-Naphthylamin	$C_{10}H_7 \cdot NH_2$ (1)	2,4
3-Aminoalizarin		3,2
Amidoisatin		3,2

schlagene präparativ wertvolle Verbesserung der Reaktion, durch Zusatz von Schwefel die Abspaltung des Schwefelwasserstoffs zu erleichtern, keine Anwendung finden.

Es wurde nun versucht, die Reaktion ohne Zusatz von pulverisiertem Ätzkali durchzuführen, um auf diese Weise die erwähnten Schwierigkeiten zu vermeiden. Es zeigte sich jedoch, daß bei höheren Konzentrationen von Schwefelkohlenstoff auch dann noch so starke positive Blindreaktionen erhalten wurden — Gelb- bis Braunfärbungen des zum Nachweis des Schwefelwasserstoffs verwendeten, mit alkalischer Plumbitlösung getränkten Tüpfelpapiers — daß eine empfindliche Mikroreaktion nicht erzielt werden konnte.

Erst bei Verwendung einer entsprechend verdünnten Schwefelkohlenstofflösung, deren Bereitung später genau beschrieben wird, ist es möglich, die Blindwerte im Leerversuch so niedrig zu halten, daß auch allerkleinste Mengen primärer aromatischer Amine noch sicher festgestellt werden können.

Ausführung: Ein wenig der Probe wird mit 20 Tropfen der alkalischen Schwefelkohlenstofflösung in dem etwa 1 ccm fassenden Röhrchen der in einer früheren Arbeit[1] abgebildeten kleinen Apparatur vermischt, der eingeschliffene Trichter aufgesetzt und dieser mit einem Scheibchen aus Tüpfelpapier, das mit alkalischer Plumbitlösung befeuchtet ist, bedeckt. Vorsichtiges Abdampfen unter Vermeidung sichtbarer Siedeerscheinungen

[1] *O. Frehden* und *Chen-Hua Huang*: Mikrochim. Acta **2**, 20 (1937).

läßt am Reagenspapier mehr oder weniger deutliche, kreisförmige hell- bis dunkelbraune Flecken entstehen, die nach dem Trocknen und Vergleich mit einem Leerversuch, der kaum eine Hellgelbfärbung auf dem Reagenspapier verursacht, eine Menge von etwa 1 γ bis 5 γ primärer aromatischer Amine zu erkennen gestatten.

Reagenzien: 1. Schwefelkohlenstofflösung: 1 Tropfen Schwefelkohlenstoff (ca. 0,018 g) in 50 ccm 96%igen Alkohols. (20 Tropfen dieser Lösung geben im Blindversuch eine kaum wahrnehmbare Hellgelbfärbung.)

2. Alkalische Plumbitlösung.

Zusammenfassung.

Es wird gezeigt, daß die „Senfölprobe" auf aromatische Amine, die bisher lediglich als Geruchsprobe in Anwendung kam, auch zu einer Farbreaktion zum Mikronachweis dieser Körperklasse ausgestaltet werden kann; die angeführte Ausführungsweise, die nur bei aromatischen Aminen positiven Ausfall ergibt, bietet auch eine rasche Unterscheidungsmöglichkeit dieser von aliphatischen Aminen.

Der Nachweis beruht darauf, daß der bei der ersten Reaktionsstufe der Senfölprobe entwickelte Schwefelwasserstoff durch einen empfindlichen Sulfidnachweis (z. B. mit Bleiacetatpapier) sichtbar gemacht wird. Eine Reihe derart überprüfter Amine wird tabellarisch angeführt.

Summary.

It is shown that the „mustard oil test" for aromatic amines can also be applied, in form of a colour reaction, for the microdetection of this class of substances. Hitherto, this test had only been performed as a smell test. Since the procedure newly described gives a positive result with aromatic amines only, it affords a possibility of quickly distinguishing those substances from aliphatic amines. The test is based on the fact that the hydrogen sulphide set free at the first stage of the mustard oil test is made visible by a sensitive test for sulphide (e. g. by means of lead acetate paper). Various amines tested in this way are listed in a table.

Résumé.

Les auteurs montrent, que „l'essai à essence de moutarde", employé jusqu'à présent seulement pour déceler les amines aromatiques par l'odeur, peut être développé à une réaction colorée, servant au micro-décèlement de ces combinaisons. Comme cette méthode ne donne de résultats positifs qu'en présence d'amines aromatiques, elle permet aussi une distinction prompte des amines aliphatiques. Ce décèlement se fonde sur la fait, que l'hydrogène sulfuré, formé au commencement de la réaction est rendu visible par un réactif très sensible pour les sulfures (p. ex. avec un papier, imbibé d'acétate de plomb). Une table montre quelles amines ont été décelées de cette manière.

Aus dem Medizinisch-chemischen Institut der Deutschen Universität in Prag.
Vorstand: Prof. Dr. *R. Zeynek.*

Über die Veraschung von organischem Material mit Brom-Salpetersäure.

Von

H. Waelsch und **A. Dimter.**

(Eingegangen am 22. März 1938.)

Ausgedehnte Beschäftigung mit Bestimmungen von Kalium, Natrium und Calcium in Geweben und Säften hat das Bedürfnis nach einer einfachen und einwandfrei übersehbaren, feuchten Veraschung erweckt. Folgende Anforderungen sollen an eine Veraschungsflüssigkeit gestellt werden: Die dazu verwendeten Reagenzien müssen von großer, im Laboratorium leicht kontrollierbarer und auch herstellbarer Reinheit, Aufschluß und Veraschung vollständig und nicht zeitraubend, der Überschuß der Veraschungsflüssigkeit leicht entfernbar sein. Zur Verfügung stehen zur feuchten Veraschung rauchende Salpetersäure, Salpetersäure-Wasserstoffperoxyd, Schwefelsäure-Salpetersäure und Salpetersäure-Perchlorsäure. Eine schnelle und vollkommene Veraschung wird durch die beiden Säuregemische gewährleistet, während Salpetersäure sowohl allein als auch in Kombination mit Wasserstoffperoxyd fettreiche Organe nur nach lang dauernder Einwirkung zerstört. Hingegen haben die beiden Säuregemische den Nachteil, daß ein Überschuß nur durch lang dauerndes Erhitzen zu entfernen und die eine Komponente unbequem zu reinigen ist.

Im Verlauf unserer Versuche sind wir auf die Veraschung mit Salpetersäure und elementarem Brom hingewiesen worden, die zwar in der Wirkung hinter den genannten Säuregemischen zurücksteht, aber durch leichte Reinigungsmöglichkeit und Flüchtigkeit der Komponenten ausgezeichnet ist.

Nach unseren Analysen enthalten Proben von rauchender Salpetersäure „pro analysi über 1,52 (Merck)" 2,56 bzw. 2,68 mg Calcium, 2,09 bzw. 1,97 mg Natrium und 1,0 bzw. 1,7 mg Kalium im Liter.[1] Nach ein-

[1] *M. Cloetta, H. Fischer* und *M. R. van der Loeff*: Arch. exp. Pathol. Pharmakol. **174**, 594 (1934) finden bis 2 mg Calcium im Liter Salpetersäure p. a.

maliger Destillation (Quarzkühlerrohr, Quarzkolben als Vorlage) fanden wir 0,1 mg Kalium im Liter.

Zur Sättigung der destillierten rauchenden Salpetersäure mit Brom läßt man aus der nach Möglichkeit liegenden Vorratsflasche die Bromdämpfe ihrer eigenen Schwere nach in die eisgekühlte Salpetersäure einfließen. Die Sättigung ist beendigt, sobald sich elementares Brom am Boden des die Salpetersäure enthaltenden Quarzkolbens absetzt.

Um ein Urteil über die Leistungsfähigkeit der Veraschungsflüssigkeit zu gewinnen, haben wir ihre Wirkung mit der der oben genannten beim Aufschluß von Serum, Gehirn und Filtrierpapier verglichen. Die Veraschungen erfolgten in Reagensgläsern aus durchsichtigem Quarz ($1{,}2 \times 10$ cm), die auf ein Sandbad von ungefähr 160^0 gestellt wurden. Bei Veraschung von 0,5 ccm Serum oder 0,5 g Gehirn oder 0,1 g Filtrierpapier wurde immer mit 1 ccm jeder Veraschungsflüssigkeit der Aufschluß begonnen, zur Trockene gebracht und dann je nach Notwendigkeit wiederholt 0,3 ccm zugesetzt. Bei Veraschung mit Salpetersäure-Wasserstoffperoxyd wurde zu der Salpetersäure Peroxyd zugetropft. Mit Brom-Salpetersäure wurde völlige Veraschung in 60 bis 90 Minuten erreicht, die Ansätze mit den Säuregemischen waren zwar früher verascht, die völlige Entfernung des Überschusses benötigte aber eine zusätzliche Zeitspanne, die über die Gesamtdauer der Veraschung mit Brom-Salpetersäure hinausging. Bei Veraschung mit Salpetersäure allein oder unter Zusatz von Peroxyd war auch zu diesem Zeitpunkt keine vollständige Mineralisation erreicht.

Ein weiterer Vorteil bei der Verwendung von Brom zeigt sich besonders bei der Kaliumbestimmung, die, ob die Fällung als Kobaltnitrit oder als Chloroplatinat erfolgt, durch Ammonsalze empfindlich gestört wird. Nach endgültiger Entfernung der Veraschungsflüssigkeit setzen wir ungefähr 0,5 ccm 1%ige Sodalösung zu und lassen wiederum Bromdämpfe in der oben beschriebenen Weise zufließen. Beim folgenden Eindampfen wird das vorhandene Ammoniak, soweit es sich nicht verflüchtigt, durch die alkalische Bromlösung als Stickstoff entfernt. Bei gleichzeitiger Bestimmung mehrerer Mineralstoffe wird man also die nach Behandlung mit Brom-Salpetersäure verbleibende Asche mit Salzsäure abrauchen, in Wasser lösen, einen Teil entnehmen und in dem zurückbleibenden aliquoten Teil die alkalische Bromlösung zur Anwendung bringen. Zur Kaliumbestimmung ist dann das nochmalige Abrauchen mit Salzsäure und die Lösung des Rückstands in Wasser notwendig.

Zusammenfassung.

Es wird über die Veraschung mit Brom-Salpetersäure berichtet, die sich bei der Zerstörung von organischem Material zum Zwecke von Mineralstoffbestimmungen bewährt hat.

Summary.

An account is given of the incineration by bromine-nitric acid which has proved to be useful for the destruction of organical material for the purpose of determinations of mineral matter.

Résumé.

Les auteurs décrivent la calcination à l'aide de l'acide azotique-bromique, servant à la destruction des substances organiques, nécessaire pour la détermination des minéraux.

School of Chemistry, Institute of Technology, University of Minnesota, Minneapolis, Minn.

Detection of Zinc with β-Naphthoquinoline and Thiocyanate.

By

E. B. Sandell, Dorothy M. Wishnick and Ethel L. Wishnick.

(Eingegangen am 23. März 1938.)

R. Berg and *O. Wurm*[1] have shown that β-naphthoquinoline reacts with a number of metals to form slightly soluble compounds of the type $(C_{13}H_9N)_2 \cdot H_2MeX_4$, where Me represents a divalent metal and X represents J or CNS. These authors separate cadmium quantitatively from zinc by precipitating the former metal as $(C_{13}H_9N)_2 \cdot H_2CdJ_4$; the corresponding zinc compound is soluble. It seemed worth while to test the utility of β-naphthoquinoline as a reagent for microchemical crystal reactions. The results showed that β-naphthoquinoline with thiocyanate furnishes a sensitive crystal reaction for zinc, even in the presence of cadmium, but that the compound $(C_{13}H_9N)_2 \cdot H_2CdJ_4$ is not an entirely satisfactory identification form for cadmium because of its slight solubility.

The reagent solution for zinc is prepared by adding a 5 or 10 per cent solution of potassium thiocyanate to a 1 per cent solution of β-naphthoquinoline in 0,1 N sulfuric acid until a slight permanent turbidity appears. Approximately 0,15 ml. of 10 per cent potassium thiocyanate is required for 1 ml. of naphthoquinoline solution. In general when the reagent is added to a neutral or slightly acid zinc solution there is first obtained a very finely divided precipitate which appears to consist of droplets. This precipitate soon recrystallizes to give thin colorless lath-shaped crystals[2] (Fig. 1) which are strongly birefringent and show parallel extinction. If the solution is very dilute, and especially if a moderate amount of acid is present, no immediate precipitation occurs but small crystals appear and grow on standing. The presence of a moderate amount of sulfuric acid in the test drop is advantageous because it hastens the recrystallization of

[1] *R. Berg* and *O. Wurm*: Ber. Dtsch. chem. Ges. **60**, 1664 (1927).

[2] The formula of the compound has not been determined, but by analogy with cadmium hydrogen naphthoquinoline iodide one may infer that it is $(C_{13}H_9N)_2 \cdot H_2Zn(CNS)_4$.

the fine precipitate first produced and leads to the formation of larger crystals. In a pure zinc solution (neutral or 1 to 2 N in sulfuric acid) the limiting concentration for the reaction may be set at 1 : 200000 when an equal volume of reagent is added to the test drop. At this concentration no immediate precipitation occurs, but small crystals form after a few minutes, often floating on the surface of the drop. The reagent itself separates as the drop evaporates in the form of spherulites and vermicules. In the presence of sulfuric acid the zinc crystals and the separated reagent finally dissolve as evaporation proceeds and a strong sulfuric acid solution is produced. Hydrochloric acid reduces the sensitivity of the reaction somewhat, because of the greater solubility of the zinc compound in this acid than in dilute sulfuric acid. However, zinc in 2 N hydrochloric acid still gives a positive reaction at a dilution of 1 : 100000.

Fig. 1. Crystals of zinc hydrogen β-naphthoquinoline thiocyanate from 0.005 per cent zinc solution in 1 N hydrochloric acid (100 ×).

It should be mentioned that the sensitivity of the zinc reaction depends upon the relative amounts of reagent and test solution. The volume of reagent added should be approximately equal to the volume of the test drop, and better a little larger than smaller. The results described here were all obtained by mixing equal-sized drops of reagent and test solution. The technique of allowing the reagent drop to flow into the test drop, or vice versa, is not suitable in general for the zinc reaction with thiocyanate and naphthoquinoline, and it is best to mix the two drops with a stirring rod The speed of separation of the crystals depends somewhat upon the size of the drop, since at very low zinc concentrations the crystals may not separate until the drop has been concentrated by evaporation. However, too small drops should not be taken because in these evaporation may be so rapid that recrystallization is cut short and the precipitate is dissolved as a consequence of the increase in acidity of the solution.

The alkali metals do not interfere; thus, it is easy to show the presence of 0,001 per cent of zinc in a saturated potassium sulfate solution which is 2 N in sulfuric acid. In the presence of alkali chlorides the sensitivity of the reaction decreases. For example in saturated sodium chloride solution (2 N in sulfuric acid) the limit of the reaction is approximately 1 : 20000. Alkali nitrates or nitric acid should not be present because nitrate ion prevents the recrystallization of the finely divided precipitate

which is first formed, and the characteristic zinc crystals do not appear. However the presence of hydrochloric acid in fairly high concentration, e. g. 4 N, counteracts to some extent the effect of nitrate and recrystallization may then take place slowly; the crystals produced are likely to be mal-formed.

The following metals in 1 per cent solution (1 N in sulfuric acid) give no precipitate with the reagent: calcium, barium (acetic acid solution of reagent), manganese, magnesium, beryllium, aluminum, chromium [Cr(III)], cerium [Ce(III)], arsenic [As(III) and As(V)] and nickel. Lead in 1 per cent solution gives no immediate precipitation when treated with an acetic acid solution of the reagent, but on standing long prisms form around the edge of the drop and later throughout the drop. Zinc at a dilution of 1 : 100000 can be detected in 1 per cent or stronger solutions of the metals named with the exception of lead. The solution should be slightly acid (1 to 2 N in sulfuric or hydrochloric acid). The reaction is well suited for the detection of small amounts of zinc in the presence of much manganese. A solution containing 20 per cent $MnCl_2 \cdot 4\,H_2O$ (approximately 5 per cent manganese) and 0,001 per cent zinc gives a distinct zinc reaction in neutral or 0,5 N sulfuric acid medium. In the presence of 1 per cent of lead ion the zinc test is doubtful at a zinc concentration of 1 : 100000 (acetic acid solution of reagent and no hydrochloric acid present) because the finely divided zinc precipitate does not crystallize sufficiently rapidily and there may be a separation of lead crystals before the zinc crystals have grown to recognizable size. However it is possible to show the presence of 0,002–0,003 per cent of zinc in a 1 per cent lead solution without difficulty.

The following metals were tested in 1 per cent solutions and found to give precipitates with β-naphthoquinoline and thiocyanate: copper [Cu(II)], silver, gold, mercury [Hg(I) and Hg(II)], thallium [Tl(I)], tin [Sn(II)], antimony, bismuth, vanadium [V(V)], molybdenum [Mo(VI)], tungsten [W(VI)], uranium (UO_2^{++}), platinum ($PtCl_6^{=}$), ferric iron and cobalt. Ferric iron gives a red crystalline compound of slight solubility with the reagent. A very low concentration of iron does no harm. Thus zinc at a dilution of 1 : 50000 could be detected in the presence of 1 : 10000 of iron, crystals of both the zinc and iron compound being formed; however, the test failed when the iron concentration was 1 : 5000. The interference of ferric iron can be prevented in large measure by carrying out the reaction in the presence of phosphoric acid. A good zinc test was obtained when a drop containing 1 per cent ferric iron and 0,002 per cent zinc was mixed with an equal volume of 85 per cent phosphoric acid and then with a volume of reagent equal to the mixture. Zinc crystals appeared in one or two minutes in the interior of the drop and grew on standing; there was some separation of iron crystals around the periphery of the drop. On

long standing both zinc and iron crystals dissolve as the acidity is increased by evaporation. It appears that even when the test drop contains one-half its volume of concentrated phosphoric acid the concentration of ferric iron should not much exceed 1 per cent. Phosphoric acid also prevents the interference of uranyl ions, so that a solution containing 0,5 per cent U(VI), 0,001 per cent zinc and 25 per cent by volume of phosphoric acid gave a good reaction after some minutes. Ferrous iron gives a precipitate with β-naphthoquinoline and thiocyanate which is analogous to the zinc compound, but much more soluble. A 1 per cent ferrous solution does not give an immediate precipitation, but on standing a thick mat of short prisms separates around the edge of the drop. By using phosphoric acid to increase the acidity and prevent the reaction of ferric iron formed by oxidation, zinc can be detected satisfactorily in the presence of moderate amounts of ferrous iron. A drop containing 20–25 per cent of phosphoric acid, 0,5—0,6 per cent Fe(II) and 0,002 per cent zinc gave a definite reaction after a few minutes, whereas a blank with ferrous iron gave no precipitate after 5 minutes. Metals such as mercury, copper, bismuth and molybdenum still react in the presence of much phosphoric acid.

Cobalt gives blue prisms with the naphthoquinoline-thiocyanate reagent which are similar in form to the zinc compound. The limit of the reaction may be set at 1 : 30000. Accordingly zinc cannot be detected in the presence of cobalt.

Cadmium hydrogen β-naphthoquinoline-thiocyanate is much more soluble than the corresponding zinc compound. When a 1 per cent solution of cadmium in 0,5—1 N sulfuric acid is mixed with an equal volume of the reagent on a slide there is no immediate precipitation, but on standing narrow colorless crystals and droplets separate at the border of the drop, the latter crystallizing to give forms similar in appearance to the zinc compound although larger. The fact that the cadmium crystals do not separate in the interior of the drop until most of the solution has evaporated makes possible the detection of zinc in the presence of cadmium, because zinc when present in sufficient concentration soon gives crystals in the body of the drop or floating on the surface. A drop containing 0,5 per cent cadmium and 0,002 per cent zinc when mixed with an equal volume of reagent gave small crystals of the zinc compound on the surface of the drop near the edge, but distinct from the cadmium needles at the border, and later zinc crystals also formed on the slide in the interior of the drop. The test was more distinct when the amount of reagent added was about twice the volume of the test drop. Then the mixture became turbid at once and many zinc crystals of fair size formed within 2 minutes in the body of the drop. A drop containing 0,5 per cent cadmium and 0,001 per cent zinc gave small zinc crystals on the surface of the drop near the edge after 5 minutes and later in the center of the drop. The reaction

was doubtful in a solution containing 1 per cent cadmium and 0,001 per cent zinc. The reaction succeeds in cadmium solutions of higher concentrations if proportionately larger amounts of zinc are present. Thus a drop (1 N in sulfuric acid) containing 2 per cent cadmium and 0,005 per cent zinc gave a positive zinc test in a few minutes. The limit ratio Cd : Zn is approximately 500. Unknown solutions were tested independently by the writers with the following results: 0,003 per cent zinc, 0,3 per cent cadmium-zinc found; 0,001 per cent zinc, 0,3 per cent cadmium-zinc found; no zinc, 0,01 per cent cadmium-zinc not found; no zinc, 1 per cent cadmium-zinc not found.

Since β-naphthoquinoline yields sparingly soluble salts with a number of anions, the solution to be tested for zinc should, in general, contain only sulfate, chloride or phosphate as anions. It may be mentioned that tartaric acid does not prevent the zinc reaction.

As already mentioned, β-naphthoquinoline with iodide does not furnish an entirely satisfactory reaction for cadmium, although the test is of some value. The finely divided precipitate first produced when the reagent[1] is mixed with a cadmium solution containing hydrochloric acid recrystallizes only slowly when the concentration of cadmium is low. Down to about 0,01 per cent of cadmium in 1 to 2 N hydrochloric acid solution the test is fairly satisfactory. Thin needle-like crystals, single or in clusters, are obtained on spontaneous recrystallization. Below 0,01 per cent recrystallization is likely to be slow and uncertain, and the test cannot be relied upon. The presence of zinc decreases the speed of recrystallization of the cadmium precipitate. Since the cadmium test did not appear promising it was not studied in detail.

Summary.

β-Naphthoquinoline with thiocyanate provides a sensitive crystal reaction for zinc in acid solution. Even at zinc concentrations as low as 1 : 200000, characteristic crystals of zinc hydrogen β-naphthoquinoline thiocyanate are obtained in 2 N sulfuric acid solution. The test can be carried out in the presence of moderate amounts of barium (acetic acid solution of reagent), calcium, magnesium, beryllium, aluminum, chromium, cerium, lead (acetic acid solution), arsenic, manganese and nickel as well as the alkali metals. Cadmium in concentrations below 0,5 per cent does not interfere; ferric iron up to 1 per cent does not interfere if the test is carried out in 50 per cent phosphoric acid solution. Most other metals give precipitates with the reagent.

---

[1] Prepared by adding potassium iodide to 1 per cent β-naphthoquinoline in 0,1 N sulfuric acid until a turbidity appears and then clearing the mixture by adding a little sodium hydrogen sulfite.

Zusammenfassung.

β-Naphthochinolin bildet im Verein mit Rhodanid ein empfindliches Kristallfällungsreagens auf Zink in saurer Lösung. Man erhält sogar noch bei Zinkkonzentrationen von 1 : 200000 charakteristische Kristalle von Zink-Hydro-β-Naphthochinolin-Rhodanid in 2n-schwefelsaurer Lösung. Der Nachweis kann in Gegenwart mäßiger Mengen von Barium (essigsaure Reagenslösung), Calcium, Magnesium, Beryllium, Aluminium, Chrom, Cer, Blei (essigsaure Lösung), Arsen, Mangan, Nickel sowie von Alkalimetallen ausgeführt werden. Cadmium stört in Konzentrationen unter 0,5% nicht; Eisen(III)-Ion bis zu 1% stört nicht, wenn der Nachweis in 50%ig phosphorsaurer Lösung ausgeführt wird. Die meisten anderen Metalle geben Fällungen mit dem Reagens.

Résumé.

La β-naphtol-chinoline forme avec le rhodanure un réactif de précipitation très sensible pour le zinc en solution acidulée. Même à une concentration de zinc de 1 : 200000 des cristaux caractéristiques de zinc-hydro-β-naphtol-chinoline-rhodanure se forment en solution 2n-sulfurique. Cette réaction n'est pas troublée par la présence de petites quantités de barium (en solution acétée), de calcium, de magnésium, de béryllium, d'aluminium, de chrome, de cérium, de plomb (en solution acétée), d'arsénic, de manganèse, de nickel, d'alcali, de cadmium (concentration au-dessous de 0,5%), de ion de fer(III), (concentration au-dessous de 1%, en solution d'acide phosphorique de 50%). La plupart des autres métaux donnent des précipitations avec le réactif.

Aus der chemischen Abteilung des Carlsberg-Laboratoriums, Kopenhagen.
Vorstand: Prof. Dr. *K. Linderström-Lang.*

Studies on Enzymatic Histochemistry.

XXIX. Dilatometric Micro-Estimation of Peptidase Activity.

By

K. Linderström-Lang and **H. Lanz Jr.**

(Eingegangen am 24. März 1938.)

The change in volume following chemical processes in liquid systems has frequently been studied. Apart from the interest connected with this volume change as a physical phenomenon it deserves attention as a possible means of studying the rate of such processes. During recent years the volume changes following a number of enzymatic processes have been investigated, especially by *P. Rona* and coworkers[1–8] and by *M. Sreenivasaya* and coworkers[9–17] and in many cases they were found to be of a considerable magnitude. The authors have been unable to

[1] *P. Rona* and *N. Neuenschwander-Lemmer*: Biochem. Ztschr. **235**, 214 (1931).

[2] *P. Rona, N. Neuenschwander-Lemmer*, and *H. Fischgold*: Biochem. Ztschr. **247**, 257 (1932).

[3] *P. Rona* and *N. Neuenschwander-Lemmer*: Biochem. Ztschr. **254**, 322 (1932).

[4] *P. Rona* and *R. Ammon*: Biochem. Ztschr. **249**, 446 (1932).

[5] *P. Rona* and *H. Fischgold*: Biochem. Ztschr. **261**, 66 (1933).

[6] *P. Rona* and *H. Fischgold*: Biochem. Ztschr. **261**, 366 (1933).

[7] *P. Rona* and *H. Fischgold*: Klin. Wchschr. **12**, 113 (1933).

[8] *R. Ammon* and *K. Bartscht*: Biochem. Ztschr. **268**, 331 (1934).

[9] *M. Sreenivasaya* and *K. Bhagvhat*: Ergebnisse der Enzymforsch. **6**, 234 (1937).

[10] *M. Sreenivasaya* and *B. N. Sastri*: Biochemical Journ. **23**, 975 (1929).

[11] *M. Sreenivasaya* and *H. B. Sreerangachar*: Nature **128**, 585 (1931).

[12] *M. Sreenivasaya, B. N. Sastri* and *H. B. Sreerangachar*: Biochemical Journ. **28**, 351 (1934).

[13] *M. Sreenivasaya* and *H. B. Sreerangachar*: Biochemical Journ. **28**, 1219 (1934).

[14] *H. B. Sreerangachar* and *M. Sreenivasaya*: Biochemical Journ. **29**, 291 (1935).

[15] *M. Srinivasan* and *M. Sreenivasaya*: Journ. biol. Chemistry **105**, 563 (1934).

[16] *M. Srinivasan* and *M. Sreenivasaya*: Current Science **1**, 380 (1933).

[17] *M. Sreenivasaya, B. N. Sastri* and *H. B. Sreerangachar*: Current Science **2**, 49 (1933).

find references to the enzymatic breakdown of peptides. The only reference to the splitting of these substances was found in a paper by *P. Rona* and *H. Fischgold*[1] in which the basic and acid hydrolysis of glycylalanine, glycylglycine and alanylglycine was studied. A direct application of the results of these investigations to enzymatic processes is however not possible since the conditions under which the hydrolysis proceeds in the latter case are quite different from those prevailing in acid or base catalysis. Unpublished data on the enzymatic break-down of peptides exist (private communication from *M. Sreenivasaya*), but since in this paper we shall mainly be concerned with the methodical side of the question we shall content ourselves with the above references.

The application of the dilatometric technique in microchemistry is based on a principle previously described by one of the authors.[2] The present paper gives a more detailed description of the method and its application to the measurement of peptidase activity. (Substrate alanylglycine.) The relation between change of density and peptide hydrolysis is studied under varying conditions and a comparison is made between the results obtained by means of the micro-method and those obtained by direct dilatometry according to *M. Sreenivasaya* and coworkers.[3]

The authors wish to express their sincere thanks to Professor *S. P. L. Sórensen* for the kindly interest with which he has followed the progress of this work. Dr. *Heinz Holter* has helped us with valuable advices for which we bring him our best thanks.

A. Principle of the micro-method.

In a vertical glass tube a practically linear specific gravity gradient is produced by mixing kerosene and bromobenzene in varying ratios.

If a small drop of an aqueous solution, in which no reactions take place is added at the surface of the liquid in this tube, it will fall with decreasing rate and finally find an equilibrium position at which the specific gravity of the surrounding medium is equal to its own. If however processes take place within the drop causing its volume and thereby its specific gravity to change, the drop will not come to a standstill, but will continue to fall or begin to rise with a rate which under certain conditions is a measure of the rate of those processes.

B. Details of the method.

1. The gradient tube and its filling.

The form and the dimensions of the gradient tube used are seen on fig. 1.

The specific gravity gradient is produced in the following way: If the specific gravity of the solution to be measured (in this case the reaction mix-

[1] See footnote 5, p. 210.

[2] *K. Linderström-Lang*: Nature **139**, 713 (1937).

[3] See footnote 9, p. 210.

ture, viz. enzyme + substrate) is called x, then two mixtures of rectified kerosene ("water white" sp. gr. 0,79) and bromobenzene (Kahlbaum "zur Analyse" sp. gr. 1,48) are prepared with the specific gravities

about $x + 0{,}01$,
about $x - 0{,}01$

at the temperature (t^0, throughout this paper 30°) at which the tube is going to be carried out. The tube is placed in a well regulated thermostat ($t^0 \pm 0{,}002$) and the heavier of these mixtures is poured in up to the middle of the tube connecting the two bulbs. Next the lighter mixture is brought to about t^0 and added cautiously through a funnel with a filter. On fig. 1 the height of the medium in the neck of the tube is shown. In order to obtain a uniform distribution of the two mixtures in the connecting tube a long spatula is introduced and is gently rotated and pulled up and down in the tube for about 10 sec. After 24–48 hours' standing the gradient is generally so nearly linear that measurements may be carried out, and it remains so for at least one month.

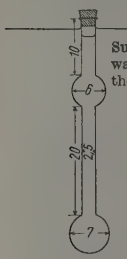


Fig. 1. The gradient tube. Dimensions in cm.

If the length of the connecting tube is 20 cm., the smallest linear gradient possible will be

$$\frac{0{,}02}{20} = 0{,}001.$$

2. Preparation of the gradient tube for measurement.

Since water is not completely insoluble in the mixture of kerosene and bromobenzene, this medium must be saturated with water at a suitable water vapor pressure, in order that drops of aqueous solutions brought into contact with the medium should not change their specific gravity by giving off water. Fortunately it is not necessary that the medium should be strictly saturated with the solutions of which the drops consist. It is sufficient that it is saturated with an aqueous solution the water vapor pressure of which is approximately equal to that of the drops.

The saturation is carried out as follows: In a 30 ccm. test tube abt. 1 ccm. of a solution of KBr (for a range of specific gravity between 0,99 and 1,01 a 0,2 molar solution is recommended, see below), is shaken violently with abt. 10 ccm. of the lighter mixture of kerosene-bromobenzene. The fine suspension formed is immediately poured into the gradient tube. The drops fall down through the tube, saturating the medium on their way, and due to the high specific gravity of KBr their equilibrium position is found far down in the lower part of the connecting tube where they do not disturb the measurement. After one saturation it is frequently observed that the smaller drops of the KBr solution come to rest at a lower level than the larger ones. Undoubtedly this is due to the relatively greater loss of water from the smaller drops. After a second saturation process the phenomenon generally does not occur.

If the gradient tube is to be used for measuring peptidase activity it is recommended that the tube be saturated with a mixture of equal volumes of substrate solution and KBr solution (see below). After 24 hours the gradient tube is ready for use. The gradient tube is to be kept well closed in order to prevent dust from contaminating the surface.

3. Calibration of the gradient.

The gradient was calibrated by means of 0,1–0,15 mm³ drops of known specific gravity. In our preliminary experiments sodium chloride, later potassium chloride, solutions were used, the latter salt being easier to obtain in a pure state. Table 1 shows the concentration and densities at 30° of the potassium chloride standard solutions (the densities taken from the *Landolt-Börnstein* tables). When not used they are kept in well-closed vessels covered with a 1 cm. layer of either kerosene or the lighter kerosene-bromobenzene mixture. 50 ccm. measuring flasks are very suitable containers if filled to the mark, since the surface exposed to the kerosene layer is small in comparison to the volume.

Table 1. Composition and density of standards.

Standard No.	% KCl	d_4^{30}	Standard No.	% KCl	d_4^{30}
0	0	0,995673	6	1,0272	1,002155
1	0,1719	0,996785	7	1,1848	1,003149
2	0,3408	0,997823	8	1,3442	1,004155
3	0,5122	0,998905	9	1,5121	1,005214
4	0,6633	0,999857	10	1,6904	1,006339
5	0,8450	1,001005	11	1,8721	1,007486

a) Addition of the drops.

The drops were added by means of a small capillary pipette either of the type previously described[1] or of the type with a constriction[2] instead of a mark. Its volume—0,1 to 0,15 mm³—may be estimated accurately by pipetting off strong acid of known concentration and titrating it in the micro titration apparatus.[1, 3] The procedure of addition was as follows: The pipette was introduced into the standard solution below the layer of kerosene and was rinsed by sucking up and blowing out the solution several times. Then the solution was drawn up to the mark, the tip of the pipette was transferred from the standard solution to the covering layer of kerosene (or light mixture) and abt. 0,1 mm³ of kerosene was drawn up into the pipette. The pipette was then wiped on the outside with the sharp edge of a dry filter paper. About half of the kerosene was blown out, the tip of the pipette touching the filter paper. The pipette was introduced into the gradient tube, the tip about 2 mm. below the surface and the liquid was blown out gently, the drop formed being removed from the tip by raising this above the surface. The drop falls and generally reaches its equilibrium position in the course of 15 minutes.

b) Removal of the drops.

In order to use the same gradient tube several times it is necessary to have a device for removing the drops from the tube after an experiment. For that purpose a long, thin glass rod with a needle-sharp point is used, the

[1] *K. Linderström-Lang* and *H. Holter*: Compt. rend. du Lab. Carlsberg **19**, No. 4 (1931); Ztschr. physiol. Chem. **201**, 9 (1931).

[2] *M. Levy*: Compt. rend. du Lab. Carlsberg **21**, No. 6 (1936); Ztschr. physiol. Chem. **240**, 33 (1936).

[3] For all purposes in the present paper a rough estimation on the microbalance was sufficient (see section D 4 b).

rod being introduced into the gradient tube slowly and without shaking. The drops adhere strongly to the glass needle and may be drawn out through the tube. At the surface they are attached to the wall since it is impossible to convey them out of the medium.

c) Measurement of the position of drops.

The position of the drops in the gradient tube was measured by means of a horizontal microscope, *A* (fig. 2), of long focal length, pivoted at *B* to move in a perfectly horizontal plane. The height of the vertical column supporting the microscope may be roughly adjusted with a rack, *C* (having a span of 100–150 mm.), and fine adjustments are made with a micrometer screw, *D*. The whole apparatus is mounted on a triangular base supported by 3 levelling screws.

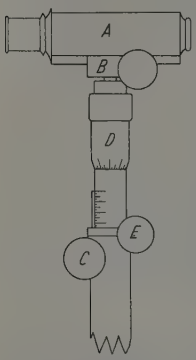


Fig. 2. The microscope.

To measure the height of a drop the micrometer screw is set at 0, and by means of the coarse adjustment *C*, the reference mark (cross-hair or scale division) in the eye-piece is set at the lower edge of a suitable "standard drop". The rack adjustment is then clamped tightly (*E*), the microscope is swung horizontally to the necessary position and by means of the micrometer screw the reference mark is moved vertically until it coincides with the lower edge of the drop in question. The micrometer screw has a vertical range of movement of 10–12 mm., one revolution corresponding to 1 mm. The circumference is divided into 100 parts, allowing an accuracy of measurement of 0,01–0,02 mm.

Table 2 shows a case of the relation between the position (in mm. above an arbitrary level) and specific gravity of standard drops. If the medium is well saturated with water and the gradient is as linear as in table 2 the drops keep their relative positions for many hours (table 3).

Table 2. Linearity of gradient.

Standard No.	Density 30/4 d	$\Delta d \cdot 10^6$	Height h	Δh mm.	$\frac{\Delta d}{\Delta h} \cdot 10^6$
1	0,996785		82,92		
		1038		7,85	132_2
2	7823		75,07		
		1082		7,69	140_7
3	8905		67,38		
		952		6,71	141_9
4	9857		60,67		
		1148		8,04	142_8
5	1,001005		52,63		
		1150		7,87	146_1
6	2155		44,76		
		994		6,92	143_6
7	3149		37,84		
		1006		7,06	142_5
8	4155		30,78		
		1059		7,37	143_7
9	5214		23,41		
		1125		7,80	144_2
10	6339		15,61		
		1147		8,04	142_7
11	7486		7,57		

Table 4 shows the change of the gradient during 2 months. During this time the tube was used frequently for measurements. It is rather astonishing

how constant it remains, taking into account the rather rough way it is treated when the drops are removed from the tube.

Table 3. Position of standard drops at different times. mm. above an arbitrary level.

Time after addition of standard drops, hours	Standard No. 8	Standard No. 9	Standard No. 10
0,40	18,90	10,04	0,61
1,25	18,91	10,04	0,61
2,25	18,88	10,02	0,59
4,50	18,83	9,98	0,56
8,00	18,75	9,92	0,53
21,00	18,59	9,77	0,40
Position of new standards added after 21 hours	18,90	10,03	0,56

Table 4. Change of relative positions of standard drops followed through 2 months. New standards introduced every day.

Date	Positions of standard drops, 10, 9, and 8 in mm. above standard 11			Date	Positions of standard drops, 10, 9, and 8 in mm. above standard 11		
	10	9	8		10	9	8
15./XII.	8,01	16,05	—	18./I.	8,38	16,77	24,81
4./I.	8,27	—	—	1./II.	8,73	17,64	26,19
5./I.	8,30	16,59	—	12./II.	8,85	18,05	26,62
6./I.	8,30	16,58	—	14./II.	8,71	17,68	26,18

4. Measurement of enzymatic activity.

When the enzymatic activity of a given solution is to be measured a suitable number of standard drops are introduced into the gradient tube covering the range of density within which the reaction mixture is known to lie. Next the enzyme solution is mixed with the same volume of substrate (or substrate is added in any other suitable way) and (by means of the micropipette described) a drop of reaction mixture is quickly introduced into the tube. After 15–20 minutes its position relative to that of the standards may be measured by means of the microscope and the measurement is repeated at suitable time intervals. From the density gradient as found from the positions of the standards and the differences in position observed for the drop the change in density may be determined.

The calculation of the relative enzyme activity is extremely simple in cases where the volume changes linearly with time, the slope of the curve obtained by plotting the densities of the drop against time being

a measure of this activity. In other cases the calculation may be more complicated but since the splitting of alanylglycine is of zero order almost up to the point of complete splitting we shall not enter upon this question here. A discussion of some of these points will be found in the experimental part of this paper.

C. Remarks on the theory of the measurement.

Before we proceed to give some results of enzymatic experiments it may be of value to inquire into the theory of the method as applied to the measurement of densities that change with time. It is obvious that the measurement of constant densities meets with no other difficulties than those mentioned above (loss of water to the medium etc.). In the case of changing densities, however, the problem is whether the moving drop at a given time may really be assumed to be at a level in the gradient tube where the density of the medium is equal to its own. Or, what is more important, whether the rate of the fall $\frac{dx}{dt}$ may be expressed with sufficient accuracy by the equation:

$$\frac{dx}{dt} = \frac{\partial x}{\partial (d)} \cdot \frac{d(d)}{dt},$$

in which d is the density, or, putting $\frac{d(d)}{dx} = \varphi$,

$$\frac{dx}{dt} = \frac{1}{\varphi} \cdot \frac{d(d)}{dt}. \tag{1}$$

The problem may be solved in a simple case which resembles the actual experiment rather closely.

According to *Stokes'* Law we have

$$\frac{dx}{dt} = \frac{2g}{9} \cdot \frac{r^2}{\eta} (d_D - d_M), \tag{2}$$

where g is 981, η the absolute viscosity of the medium through which the drop falls, r the radius of the drop, d_D and d_M the densities—at a given time—of drop and medium respectively.

We further assume

$$\frac{d(d_M)}{dx} = \varphi \quad \text{(constant gradient)},$$

$$\frac{d(d_D)}{dt} = \alpha \quad \text{(constant rate of density change)},$$

$$\eta = \text{constant throughout the gradient tube.}$$

Hence $d_M = d_{M_0} + \varphi x$ (d_{M_0}, density at the top of the gradient tube),
$d_D = d_{D_0} + \alpha t$ (d_{D_0}, initial density of the drop)

and

$$\frac{dx}{dt} = \frac{2g}{9} \cdot \frac{r^2}{\eta} (d_{D_0} + \alpha t - d_{M_0} - \varphi x). \tag{3}$$

If we put $x = 0$ when $t = 0$, the solution of this differential equation is

$$x = \frac{d_{D_0} - d_{M_0}}{\varphi} \left(1 - e^{-\frac{2g}{9} \cdot \frac{r^2}{\eta} \varphi t}\right) + \\ + \frac{\alpha}{\frac{2g}{9} \cdot \frac{r^2}{\eta} \varphi^2} \left[\left(\frac{2g}{9} \cdot \frac{r^2}{\eta} \varphi t - 1\right) + e^{-\frac{2g}{9} \cdot \frac{r^2}{\eta} \varphi t}\right] \tag{4}$$

and

$$\frac{dx}{dt} = \frac{2g}{9} \cdot \frac{r^2}{\eta} (d_{D_0} - d_{M_0})\, e^{-\frac{2g}{9} \cdot \frac{r^2}{\eta} \varphi t} + \frac{\alpha}{\varphi} \left(1 - e^{-\frac{2g}{9} \cdot \frac{r^2}{\eta} \varphi t}\right). \quad (5)$$

Introducing here $g = 981$, $\eta = 0{,}0090$ (viscosity relative to water roughly measured in the laboratory, the absolute value for water at 30° taken to be 0,0080), $d_{D_0} - d_{M_0} = 0{,}01$ (compare section B 1), $\varphi = 0{,}001$ ($\Delta d = 0{,}02$ for 20 cm.) we have

$$\frac{dx}{dt} = 242\, r^2\, e^{-24{,}2\, r^2 t} + \frac{\alpha}{\varphi}(1 - e^{-24{,}2\, r^2 t}). \quad (6)$$

If the volume of the drop is assumed to be 0,1 mm³, r^2 is equal to $\left(\frac{3}{4\pi} 10^{-4}\right)^{\frac{2}{3}} = 8{,}29 \cdot 10^{-4}$ cm².

Hence

$$\frac{dx}{dt} = 0{,}2\, e^{-0{,}02\, t} + \frac{\alpha}{\varphi}(1 - e^{-0{,}02\, t}). \quad (7)$$

By comparing (7) to (1) it is seen that $\frac{dx}{dt}$ with increasing time approaches the value given in (1) $\left(\frac{d(d)}{dt} = \alpha\right)$. Already after 10 min. (600 sec.) we have

$$\frac{dx}{dt} = 0{,}2\, e^{-12} + \frac{\alpha}{\varphi}(1 - e^{-12}).$$

Now the rate of change in density in the experiments to follow is around 10^{-7} hence

$$\frac{dx}{dt} = 0{,}2 \cdot 10^{-5{,}21} + 10^{-4}(1 - 10^{-5{,}21})$$

and the error after 10 min. is about 1%. After 15–20 min. it is negligible.

In the actual experiment account must be taken of the time required for the drop to fall from the surface through the upper bulb to the beginning of the connecting tube, where the zero point of the gradient is supposed to lie (see fig. 1), a distance of about 12 cm. This time may be derived from equation (2) assuming the density of the medium to be constant throughout this distance

$$\Delta t = \frac{\Delta x}{\frac{2g}{9} \cdot \frac{r^2}{\eta} (d_{D_0} - d_{M_0})} = \frac{12}{0{,}2} = 60 \text{ sec.}$$

a value close to that experimentally found.

Provided the assumptions hold true, it should be safe to start the readings 15–20 min. after adding the drop.

D. Experimental part.

1. Composition of reaction mixtures.

a) Substrate solutions.

The preparation of dl-alanylglycine used as a substrate in all experiments was made in the laboratory and recrystallized.

The table below shows the composition of substrate solutions at different p_H values, calculated under the assumption that the p_K value for dl-alanylglycine at 30° is 8,09.

b) Enzyme solutions.

The enzyme solution (I) used for the preliminary experiments was made by grinding 8 g. of *pylorus mucosa* (pig) with sand and 40 ccm. of M/15 phosphate buffer of p_H 7,4. The extract was used after filtering without further dilution.

Composition of substrates.

p_H	Molarity of dl-alanylglycine	Molarity of NaOH
6,81	0,2	0,0100
7,13	0,2	0,0193
7,42	0,2	0,0346
7,72	0,2	0,0611
8,00	0,2	0,0900

The enzyme solutions used in all of the chief experiments were prepared from the same 60% glycerine extract of pigs intestine (30 g. per 100 ccm.) by diluting with phosphate buffer of different p_H and concentrations (6,8, 7,1, 7,4, 7,7, 8,0 and M/30, M/60 and M/120).

c) Reaction mixture and reaction temperature.

The reaction mixtures were in all cases prepared by mixing equal volumes of enzyme and substrate solutions. In case of the micro estimation the mixing was made at 20° and the drops were added to the gradient tube immediately after mixing. The temperature of the waterbath was 30° ± 0,002°.

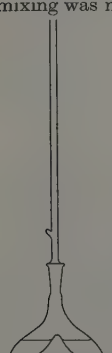


Fig. 3. The dilatometer.

2. Direct dilatometric determination of the volume change following the hydrolysis of alanylglycine.

The apparatus applied was essentially the two-bulb dilatometer described by *M. Sreenivasaya* and coworkers[1] (fig. 3). Its volume was abt. 35 ccm., that of the reaction mixture exactly 25 ccm. (12,5 ccm. enzyme + 12,5 ccm. substrate). As indifferent liquid above the reaction mixture, kerosene + bromobenzene was used. The ground glass joint was "greased" with glycerine. One of the previously described micro-burettes[2] served as a capillary. Hence the readings could be made with an accuracy of 0,02 mm[3].

Fig. 4 shows a typical experiment. Ordinates are the readings on the capillary, the time is on the abscissa. The first part of the curve gives the readings before mixing enzyme and substrate (both kept separately in the two bulbs). The slight variations are due to temperature changes of the water bath. At *A* enzyme and substrate were mixed and the volume began to decrease. Beyond *B* all substrate present is split and the curve is again parallel to the abscissa. It is seen that the volume changes perfectly linearly with time except at the very beginning of the experiment and around point *B*. The first deviation is probably due to a slight rise

[1] See footnote 9, p. 210.
[2] See footnote 1, p. 213.

in temperature caused by a heat formation following the mixing. The second deviation arises from the fact that the hydrolysis of alanylglycine is not a zero order reaction up to complete splitting.

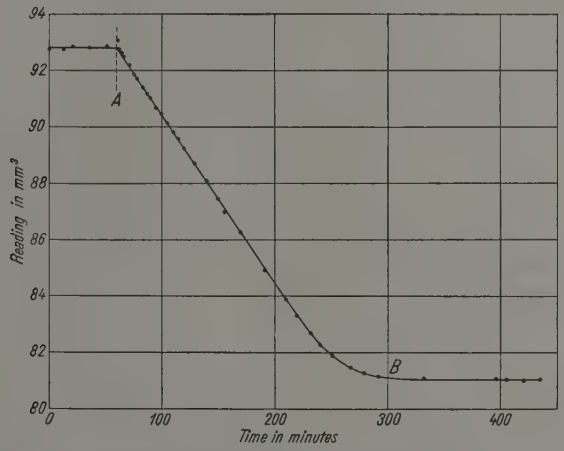


Fig. 4. Change in volume following the splitting of alanylglycine. $p_H = 7,4$, phosphate concentration = M/60. Volume of reaction mixture 25 cc.

Since the deviation at the start of the experiment may have the above mentioned explanation no account has been taken of the first points on the curve and the zero value for the volume is found by linear extrapolation. The extrapolated zero volume is in the given case $x + 92,80$ mm³, the final volume $x + 81,00$. Hence the volume decrease following complete splitting of the alanylglycine present is 11,80 mm³. Of the two optic isomers in dl-alanylglycine only one is split by the peptidase. Therefore the 11,80 mm³ corresponds to the splitting of $25 \cdot 0,05 = 1,25$ millimole of peptide bond and the mean volume change, ω, per millimole peptide bond is calculated to be

$$\omega = -9,44.$$

In table 5 values are given for this mean volume change under different experimental conditions.

Table 5. Values for ω at different p_H and phosphate concentrations.

Phosphate concentration in the reaction mixture	Initial p_H 6,8	Initial p_H 7,4	Initial p_H 8,0
M/30	—	$-9,9_0$	—
M/60	$-9,1_8$	$-9,4_4$	$-9,4_1$
M/120	—	$-9,1_2$	—

From table 5 it appears that ω is dependent upon p_H and the phosphate concentration, a fact which must be borne in mind when applying the dilatometric method in enzyme studies. Fortunately the variation

with p_H is very slight. This circumstance justifies the use of ω as a general factor when computing chemical changes from changes in volume for these systems. The amount of buffer in the reaction mixtures (phosphate + unsplit optical isomer) is not large, and *during the reaction* p_H will increase 0,1—0,2 units. Since however ω varies but little with the initial p_H it may be safe to assume that the volume change per millimol of peptide bond split is constant throughout the reaction, an assumption which is greatly supported by the strict linearity of the volume-time curve.

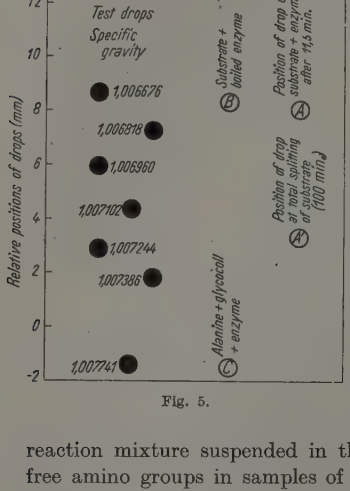


Fig. 5.

3. Preliminary micro estimations.

As previously described[1] a preliminary comparison was made between the change of density of a drop of reaction mixture suspended in the gradient tube and the liberation of free amino groups in samples of reaction mixture of identical composition. Fig. 5 shows one of the density experiments as an illustration. The drop A (0,1 mm³) was a mixture of enzyme solution I and substrate of p_H 7,4. During the enzymatic reaction it fell—*corresponding to a decrease in volume*—and reached a final and constant position A' when the reaction was completed. Drop B contained boiled enzyme but was otherwise identical with A. In drop C the dl-alanylglycine was replaced by dl-alanine (0,1 M) + glycocoll (0,1 M). Both these drops remained constant at their respective levels. The final position of A (A') is nearly halfway between B and C in agreement with the above mentioned fact that d-alanylglycine alone is split by the enzyme.

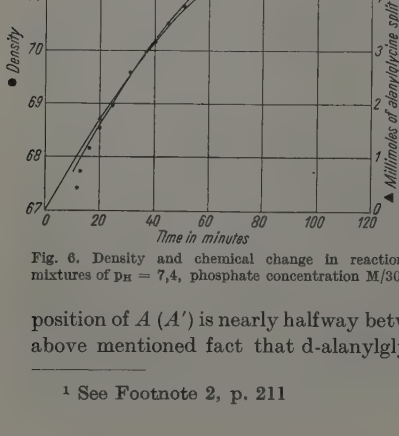


Fig. 6. Density and chemical change in reaction mixtures of p_H = 7,4, phosphate concentration M/30.

[1] See Footnote 2, p. 211

The comparative estimation of the liberation of amino groups was made in 14,6 mm³ samples of reaction mixture according to the previously described micro-technique.[1] In Figs. 6 and 7 the results of two experiments are graphically given; the change in density and liberation of amino groups (recalculated to 0,1 mm³ samples) being the ordinates, time the abscissae. Fig. 8 shows the connexion between density and splitting throughout the experiments. From the slope the change of density per millimole of alanylglycine split (under the given conditions) is computed to be

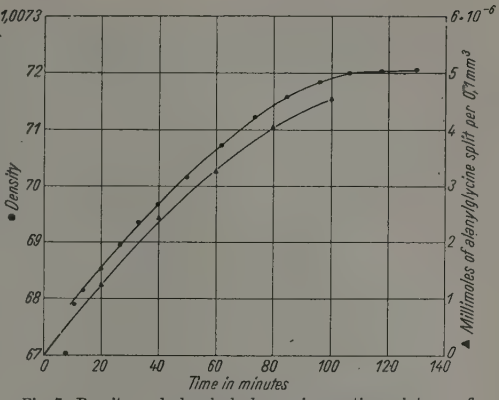


Fig. 7. Density and chemical change in reaction mixtures of $p_H = 7,4$, phosphate concentration M/30.

9,90 and 10,12, mean 10,0.

Hence for ω, the volume change in mm³ per millimole of alanylglycine split, we find

$$\omega = -\frac{\Delta d}{d} = -\frac{10,0}{1,007} = -9,93.^2$$

This value is in good agreement with that found by direct dilatometry (9,90) (as a matter of fact in far closer agreement than justified, considering the errors involved).

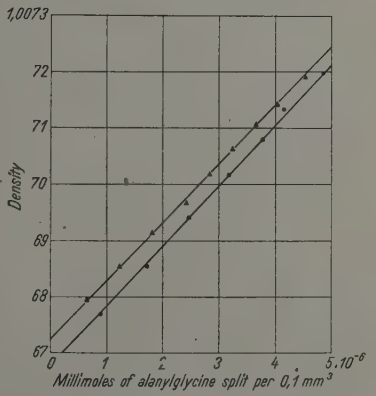


Fig. 8. Density and chemical change in reaction mixtures of $p_H = 7,4$, phosphate concentration M/30.

4. Concluding micro estimations.

a) Determinations of ω under different conditions.

The direct dilatometric experiments have shown the linear rela-

[1] See Footnote 1, p. 213.

[2] The value is a little lower than the one given in the preliminary note (0,74 mm³ per mg. amino-N formed ~ 10,3 mm³ per millimole of amino-N). There are two reasons for this. Firstly, in a later control experiment the values for the amino groups as estimated by chemical analysis were found to be somewhat too low—about 2%—due to the high alcohol content of the titration mixture. Secondly no account was taken of the fact that the specific gravity of the reaction mixture deviated from 1. Therefore the value given above ($\omega = -9,9$) is to be preferred.

tionship between change in volume and chemical change. In order that the micro method be generally applicable to the study of peptidase activity it is necessary to investigate the same relationship also by means of this method and under varying experimental conditions. Therefore the following experiments were carried out.

The above mentioned glycerine extract of pig intestine was diluted with 50 volumes of phosphate buffer (of different p_H and concentration, see above), so that its peptidase activity was sufficiently great to split the alanylglycine in an equal volume of a 0,2 M solution of this substrate completely in the course of from 3–5 hours. A small part of the enzyme solution was heated to 100° in a sealed glass tube for half an hour and used for blank drops. The procedure was then as follows.

A number of standard drops (0,15 mm³) were introduced covering the range of density of the experiment. Generally two drops of each standard were introduced and their equilibrium height should not deviate more than 0,1 mm. from each other. Next the active enzyme and the substrate were mixed in a small test tube under kerosene using the same 100 mm³ pipette for both pipettings. Immediately after mixing, 2–3 drops (0,15 mm³) were introduced into the gradient tube. The mixing and introducing took only 2 minutes. Then the heated, inactive enzyme solution was mixed with substrate in the same way and 2–3 drops were introduced into the gradient tube. The positions (relative to standard drops) of both blank drops and drops with active enzyme were observed at about 15 min. intervals and the experiment was continued until the change in position per unit time became identical for blank drops and active drops indicating that the enzymatic process had run to completion. Since as mentioned the splitting of alanylglycine very nearly is of zero order the rise in density with time is linear in a considerable time interval and the density at zero time may be graphically found by linear extrapolation to zero time (time of mixing). In the few cases (see below) where the blank drops showed any appreciable movement relative to the standards also this movement proceeded with constant rate and the change in position of the blank drops reckoned from zero time could be found by extrapolation.

It must be emphasized that in general parallel drops of reaction mixture or parallel blanks deviate more in position (and in density measured) from one another than do the corresponding standard drops. Deviations up to 1 mm. occur. The reason for this must be sought in the slight turbidity of the enzyme extract which may flocculate to larger particles in the micro-pipette and thus give rise to variations in density.

This phenomenon is of no great importance, since it is the change in density, not the density itself which is to be measured. In all cases investigated the change of density per unit time or corresponding to total splitting of substrate was well reproducible independent of the slight variations in absolute density of the drops in question.

Let Δh and Δh_b represent the change in height of active and blank drops respectively from the beginning to the end of the experiment and let $\varphi = \frac{\Delta d_s}{\Delta h_s}$ be the gradient as measured by means of the standards; then

$$\Delta d = (\Delta h - \Delta h_b)\, \varphi$$

represents the difference in specific gravity of the drops containing active enzyme before and after total splitting of the alanylglycine present in the drops. Since in all cases below, the substrate concentration in the drops

was 0,1 M with respect to the racemic compound and since only the laevo isomer is attacked the change in density for a ν mm³ drop corresponds to

$$\nu \cdot 0{,}05 \cdot 10^{-3} = \nu \cdot 5 \cdot 10^{-5}$$

millimole of alanylglycine split and to

$$\frac{\nu}{d} \Delta d \text{ mm}^3 \text{ change of volume.}$$

Hence ω (the volume change in mm³ per millimole of alanylglycine split) is

$$\frac{1}{5 \cdot 10^{-5}} \cdot \frac{\Delta d}{d} = \frac{2 \cdot 10^4}{d} \Delta d.$$

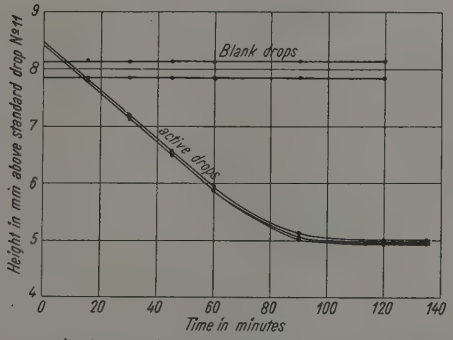


Fig. 9. Determination of Δd for reaction mixtures of $p_H = 7{,}4$, phosphate concentration M/60.

In table 6 and fig. 9 a typical experiment is given and the calculation of ω carried out. It will be seen that the agreement between the changes in density found in parallel experiments is satisfactory.

Table 6. Experiment 4/1—38.

Substrate 0,2 M dl-alanylglycine, $p_H = 7{,}4$ (30°).
Enzyme: Intestinal extract diluted 1 : 50 with M/30 phosphate buffer $p_H = 7{,}4$.
Readings of positions of standard drops:
Standard No. 11 0,00 mm. } constant throughout experiment (200 minutes).
„ „ 10 8,27 mm. }
Position of standard 11 taken as zero point. 3 blank drops, 4 drops of reaction mixture. The addition of 4 drops took 2—3 minutes. The reading of 4 drops took 2 minutes.
The given times refer to the readings of the drops first added of the 3, accuracy of the time-keeping thus being 1 minute.

Time in min.	Position of blank drops (inactive enzyme + substrate) mm.			Position of drops of reaction mixture (active enzyme + substrate) mm.			
	1st drop	2nd drop	3rd drop	1st drop	2nd drop	3rd drop	4th drop
0 extrap.	8,14	7,85	7,85	8,45	8,39	8,39	8,37
15 „	8,16	7,85	7,85	7,85	7,85	7,86	7,80
30 „	8,13	7,85	7,85	7,20	7,15	7,15	7,12
45 „	8,14	7,84	7,84	6,58	6,49	6,49	6,48
60 „	8,13	7,84	7,84	5,95	5,87	5,87	5,87
90 „	8,14	7,85	7,85	5,13	5,05	5,05	5,00
120 „	8,13	7,85	7,84	5,02	4,95	4,97	4,92
135 „	—	—	—	5,02	4,95	4,97	4,92

$$\Delta h = \begin{cases} 3{,}43, \\ 3{,}44, \\ 3{,}42, \\ 3{,}45, \end{cases} \qquad \Delta h_b = 0,$$

$$\Delta d = \Delta h \cdot \frac{11{,}25 \cdot 10^{-4}}{8{,}04} = \begin{Bmatrix} 4{,}75 \\ 4{,}77 \\ 4{,}74 \\ 4{,}79 \end{Bmatrix} = 4{,}76 \cdot 10^{-4},$$

$$\omega = 9{,}52 \cdot \frac{1}{1{,}007} = 9{,}45.$$

An especial point must be mentioned here. Generally the reading of the position of the drop was started 15 to 20 minutes after mixing enzyme and substrate. Now, it frequently happened (as in the experiment given in fig. 9) that the point representing the reading after 15 min. lay slightly above the straight line drawn through the points representing the readings at 30, 45, and 60 min. Since it is questionable whether the drop had reached its true level after 15 min. this point was disregarded when extrapolating to zero time. In two cases the reading after 20 min. fell above the line through the points at 30, 45, and 60 min. but since in the same experiments the blank drops too had not reached their constant level after 20 min., these readings were discarded.

The results are found in tables 7—12. It is observed that the values for ω found at $p_H = 6{,}8$, 7,1 and 7,4 agree well with those obtained by direct dilatometry. At $p_H = 7{,}7$ and 8,0, however, appreciable deviations are found. The reason for this is as yet obscure, but one interesting point must be noted. At both these p_H values an appreciable movement of the blank drops is observed (Δh_b is large) and after total splitting the active drops continue to fall (see fig. 10). It therefore seems as if a slow reaction takes place between the medium (the bromobenzene ?) and the drops and with a rate that increases with increasing p_H. Since p_H increases during the reaction the correction by subtracting Δh_b may not eliminate this source of error. We have therefore chosen at the present time to limit the application of the drop-method to reaction mixtures with p_H values between 6,8 and 7,4, but we hope in a later communication to report experimental conditions that will allow measurements also with more alkaline reaction mixtures.

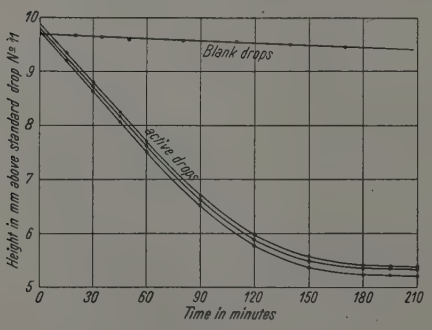


Fig. 10. Determination of Δd for reaction mixtures of $p_H = 8$, phosphate concentration M/60.

Table 7. Influence of phosphate concentration upon Δd. $p_H = 6{,}8$.

Date	M/60		M/120	
	$\Delta d \cdot 10^4$	mean	$\Delta d \cdot 10^4$	mean
7./I.	4,58			
	4,67	4,63		
	4,63			
6./II.	4,59		4,60	
	4,60	4,60	4,58	4,59
	4,59			
	4,63			
mean	**4,61**		**4,59**	
mean square error on single det .	0,03			
mean square error on mean.....	0,01			

Table 8. Influence of phosphate concentration upon Δd. $p_H = 7{,}4$.

Date	M/60		M/120		M/240	
	$\Delta d \cdot 10^4$	mean	$\Delta d \cdot 10^4$	mean	$\Delta d \cdot 10^4$	mean
4./I.	4,75					
	4,77	4,76				
	4,74					
	4,79					
5./I.	4,72					
	4,75	4,76				
	4,80					
	4,78					
6./I.	4,76					
	4,81	4,80				
	4,84					
18./I.	4,84		4,70		4,57	
	4,74	4,79	4,73	4,70	4,64	4,63
	4,81		4,68		4,67	
	4,76				4,62	
7./II.	4,76	4,78				
	4,79					
12./II.	4,77	4,77	4,61			
			4,67	4,66		
			4,70			
14./II.	4,72		4,60			
	4,76	4,75	4,70	4,64		
	4,78		4,62			

Continuation of the Table 8.

	M/60		M/120		M/240	
	$\Delta d \cdot 10^4$	mean	$\Delta d \cdot 10^4$	mean	$\Delta d \cdot 10^4$	mean
mean	4,77		4,67		4,63	
mean square error on single det.	0,04		0,05			
mean square error on mean .	0,01		0,02			

Table 9. Influence of phosphate concentration upon Δd. $p_H = 8$.

Date	M/60		M/120	
	$\Delta d \cdot 10^4$	mean	$\Delta d \cdot 10^4$	mean
8./I.	5,72 5,66 5,76	5,71		
14./I.	5,74 5,74 5,71 5,69	5,72		
15./I.	5,77 5,83 5,73 5,73	5,77		
11./II.	5,85 5,66 5,84	5,78	5,70 5,60 5,64	5,65
mean	5,75		5,65	
mean square error on single det. ..	0,06			
mean square error on mean	0,02			

Table 10. Value of Δd at $p_H = 7{,}1$, phosphate conc. M/60.

Date	$\Delta d \cdot 10^4$	mean
22./II.	4,62 4,78 4,75	4,72
24./II.	4,69 4,70 4,78	4,72
mean	4,72	

Table 11. Value of Δd at $p_H = 7{,}7$, phosphate conc. M/60.

Date	$\Delta d \cdot 10^4$	mean
22./II.	5,00 5,14 4,92	5,02
24./II.	4,94 5,08 5,16	5,06
mean	5,04	

Table 12.

Influence of p_H and phosphate concentration on ω, the change in volume (mm^3) following total splitting of 1 millimole of alanylglycine.
Enzyme: Intestinal extract diluted 1:50 with phosphate buffers of the given p_H and concentrations M/30, M/60, and M/120.
Substrate: 0,2M dl-alanylglycine of the given p_H.
Reaction mixture: Equal volumes of each (0,1M dl-alanylglycine).

Phosphate concentration in reaction mixture	$p_H = 6,8$		$p_H = 7,1$	$p_H = 7,4$		$p_H = 7,7$	$p_H = 8,0$	
	Micro-method	Direct dilat.	Micro-method	Micro-method	Direct dilat.	Micro-method	Micro-method	Direct dilat.
M/60	$-9,1_6$	$-9,1_8$	$-9,3_5$	$-9,4_7$	$-9,4_4$	$-9,9_9$	$-11,4_2$	$-9,4_1$
M/120	$-9,1_2$	—	—	$-9,2_8$	$-9,1_2$	—	$-11,2_2$	—
M/240	—	—	—	$-9,2_2$	—	—	—	—

b) Determination of peptidase activity.

The procedure for estimating peptidase activity was described in section B 4 and D 4a. As frequently mentioned the linear form of the density-time curve enables one to define the activity directly as the slope

Table 13.

Relation between enzyme concentration and rate of density change at $p_H = 7,4$. The strongest enzyme solution was made up by mixing the intestinal extract with 50 volumes of M/30 phosphate buffer of $p_H = 7,4$. The dilutions of this were made with M/30 phosphate containing 1,2% glycerine. Volume of the drops 0,15 mm^3.

Relative concentration of enzyme	Change of density in 100 minutes · 10^4		Change of density calculated from the value for the strongest enzyme concentration
Experiment 1			
1	4,05	3,99	—
0,5	1,99	2,01	2,01
0,25	1,01	—	1,01
0,125	0,44	—	0,50
0,100	0,25	—	0,40
0	0	—	0
Experiment 2 (part of it shown in fig. 11)			
1	3,59	3,57	—
0,8	2,85	2,89	2,86
0,6	2,15	2,16	2,15
0,4	1,45	1,44	1,43
0,2	0,58	0,59	0,72
0	0	0	0

of this curve. In fig. 11 and table 13 some few experiments are shown and it is seen that the activity found is proportional to the enzyme concentration, except at the lowest concentrations, where an appreciable enzyme destruction takes place. The agreement between duplicate determinations is also satisfactory.

It may be necessary here to say a few words about this enzyme destruction. It is a well-known phenomenon also in macro experiments and consequently is not caused by the medium in the gradient tube. Furthermore it takes place much more rapidly before addition of substrate than after although a slightly more pronounced tendency to bend is observed in case of the curves representing the lower enzyme concentrations. Glycerine acts as a preservative (compare the more bend curves in fig. 6 and 7 where no glycerine was present in the reaction mixtures), but the main protection seems to be rendered by some impurity (Begleitstoff) in the extract itself. The abrupt appearance of the fall in activity between the relative concentrations 0,2 and 0,4 indicates the presence of an inhibitor in one of the reagents used (phosphate ?), an inhibitor which is abolished by the above named impurity (and to a certain degree by glycerine) when this is present in sufficient quantity but not below a certain threshold.

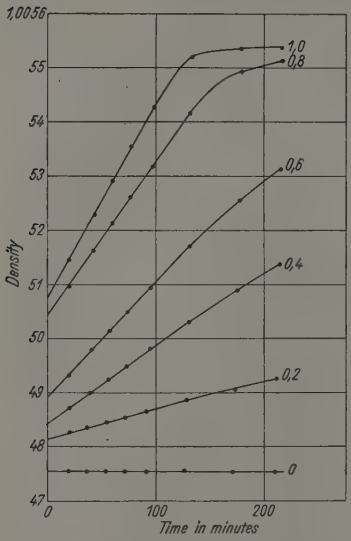


Fig. 11. Relation between enzyme concentration and slope of density-time-curve. $p_H = 7{,}4$, phosphate concentration M/60. The figures give the relative concentration of enzyme.

The use of the slope as a measure of the peptidase activity is of course only correct if the size of the drops of reaction mixture and the experimental conditions always are the same. For absolute measurements the quantity

$$q = \frac{s \cdot v}{\omega \cdot d} = \frac{\Delta m}{\Delta t} \quad (s \text{ slope}; \ v \text{ drop volume})$$

is a correct measure of the activity, and represents the number of millimoles of alanylglycine split per unit time.

5. Accuracy of the micro-method.

The quantity of peptidase just measurable by means of this method naturally depends on the time of reaction chosen. With long reaction times great density changes are effected by small amounts of peptidase. If 10 hours is taken as a suitable time of measuring and a density change of $0{,}1 \cdot 10^{-4}$ is regarded measurable with certainty then for 0,1 mm³ drops these assumptions correspond to the splitting, of

$$0{,}1 \cdot 5 \cdot 10^{-5} \cdot \frac{0{,}1}{4{,}8} = 10^{-7}$$

millimole alanylglycine in 10 hours.

To get an idea of the amount of organic material able to produce this effect we may consider a sea-urchin egg which in the course of 10 hours splits about 10^{-4} millimole alanylglycine[1] and we find that the action of

$$\frac{10^{-7}}{10^{-4}} = \frac{1}{1000}$$

of a sea-urchin egg should just be estimable. Since the dry weight of an egg is about $5 \cdot 10^{-5}$ mg. this corresponds to $5 \cdot 10^{-8}$ mg. organic material.

The following small experiment may serve as a hint with regard to how long the times of observation may safely be extended. Two drops *A* and *B* with the following composition:

A: 0,2 M. alanylglycine, 0,0346 M. NaOH,
B: 0,2 M. alanine + 0,2 m. glycocoll, 0,0346 M. NaOH,

thus representing the initial and the final state of a reaction mixture (in which all of the alanylglycine is split) were observed $^1/_2$ hour and 22 hours after their addition using the same standards introduced simultaneously with them. The density difference was:

$^1/_2$ hour	0,000944,
22 hours	0,000930.

Another experiment in an other gradient tube gave:

$^1/_2$ hour	0,00955,
22 hours	0,00946.

It therefore appears that experiments lasting 24 hours may be safely carried out. That no actual enzymatic experiment is given here is due to the instability of the intestinal peptidase applied.

Summary.

A dilatometric micro-method for the estimation of peptidase activity is described. The accuracy of the method is about 50 times that of the previously described micro-technique.[2]

The volume changes following the hydrolysis of alanylglycine were determined and were found to depend on p_H and the concentration of the phosphate buffer present. The volume changes per millimole of peptide bond split were 9,1 9,9 mm^3 in the given cases.

Zusammenfassung.

Es wird eine dilatometrische Mikromethode zur Bestimmung der Peptidaseaktivität beschrieben. Die Methode ist ungefähr 50mal genauer als das früher beschriebene Mikroverfahren.[2]

[1] *K. Linderström-Lang*: Compt. rend. du Lab. Carlsberg **19**, No. 13 (1933); Ztschr. physiol. Chem. **215**, 167 (1933).

[2] See footnote 1, p. 213.

Es wurden die Volumsänderungen bei der Hydrolyse des Alanylglycins bestimmt und festgestellt, daß sie vom p_H und der Konzentration des vorhandenen Phosphatpuffers abhängen. Die Volumsänderungen je Millimol gespaltener Peptidbindung betrugen in den vorliegenden Fällen 9,1—9,9 mm^3.

Résumé.

Les auteurs décrivent une micro-méthode dilatométrique pour déterminer l'activité de la peptidase. Cette méthode est environ cinquante fois plus précise que la micro-méthode décrite auparavant.[1]

Les auteurs déterminèrent les changements de volume après l'hydrolyse de l'alanyleglycine et trouvèrent que ces changements dépendent du p_H et de la concentration du tampon de phosphate présent. Les changements de volume par molécule milligramme de la liaison-peptide séparée étaient de 9,1—9,9 mm^3 dans ces cas.

[1] See footnote 1, p. 213.

Aus der pflanzenchemischen Forschungsabteilung der Knoll A. G., Ludwigshafen (Leiter Dr. habil. *G. Schenck*) und dem pharmazeutischen Institut der Universität München (Vorstand Prof. Dr. *B. Bleyer*).

Über die Standardisierung von Präparaten aus dem frischen Milchsaft von Lactuca virosa.[1]

Von

G. Schenck und H. Graf.

(Eingegangen am 29. März 1938.)

Die pharmazeutische und pharmakologische Untersuchung des frischen Milchsaftes von *Lactuca virosa* hat zu einem neuen Ernteverfahren geführt. Dieses ermöglicht es, in kurzer Zeit aus dem frischen Milchsaft ein Präparat zu gewinnen, welches alle wirksamen Stoffe in haltbarer, wasserlöslicher Form enthält.[2]

Dieses Präparat wurde von der Knoll A.-G. unter dem Namen „Latucyl" der klinischen Prüfung übergeben.

Über die klinischen Erfahrungen berichteten bisher: Dr. *W. Heesen*,[3] Eleonorenheilstätte, Winterkasten i. Odenwald, und Dr. *G. Schröder*,[4] Waldsanatorium Schömberg, Kreis Neuenbürg/Schwarzwald, sowie Dr. *I. Behrens*,[5] Städtische Krankenanstalten, Kiel.

Die Auswertung der Ergebnisse der klinischen Untersuchungen, die Ausarbeitung der Dosierung für die verschiedenen Indikationen und die sich darauf gründende Einführung in die allgemeine Therapie in Form eines Handelspräparats sind nur möglich, wenn ein Präparat mit stets

[1] Zur quantitativen Bestimmung der Bitterstoffe in *Lactuca* wurde von den Verfassern eine gustometrische Methode verwendet. Da diese grundsätzlich den kolorimetrischen Methoden gleichzustellen ist, außerdem infolge des häufigen Vorkommens von bitter schmeckenden Substanzen in biologischen Materialien ein Interesse für die Bestimmungsmöglichkeit dieser Verbindungen besteht, wurde die vorliegende Arbeit aufgenommen.

Die Schriftleitung.

[2] *G. Schenck* und *H. Graf*: Arch. Pharmaz. u. Ber. Dtsch. pharmaz. Ges. **274**, 537—542 (1936). — *G. Schenck*: Münch. med. Wchschr. **1937**, 1250 u. 1251. — *A. W. Forst*: Münch. med. Wchschr. **1937**, 1251—1254.

[3] *W. Heesen*: Dtsch. med. Wchschr. **1937**, 1731 u. 1732.

[4] *G. Schröder*: Dtsch. Tuberkuloseblatt **1938**, 5—7.

[5] *J. Behrens*: Münch. med. Wchschr. **1938**, 139.

gleichem Gehalt an wirksamen Stoffen zur Untersuchung und zur Anwendung kommt.

Forst[1] konnte nachweisen, daß die sedative Wirkung des Giftlattichmilchsaftes auf die beiden darin enthaltenen Bitterstoffe Lactucin und Lactucopikrin zurückzuführen ist. Damit war die Aufgabe gestellt, unabhängig von der pharmakologischen Analyse nach pharmazeutisch-analytischen Methoden zu suchen, um die aus verschiedenen Erntezeiten und Landschaften anfallenden Präparate auf ihren Gehalt an Lactucin und Lactucopikrin zu untersuchen und durch Mischung verschiedener Präparate ein stets einheitliches, standardisiertes Pulver herstellen zu können.

Zur ersten Orientierung suchten wir eine Methode, die es gestattet, schnell den Gesamtgehalt an Bitterstoffen zu messen. Es ist aber unser Ziel, auch solche Methoden zu finden, welche den Gehalt an den *einzelnen* Bitterstoffen zu bestimmen ermöglichen und uns so von der pharmakologischen Analyse ganz unabhängig machen. Da die Bitterstoffe der *Lactuca virosa* sich durch einen intensiv bitteren Geschmack auszeichnen, versuchten wir zuerst, zu einer Bestimmung des Gesamtgehalts an Bitterstoffen durch Anwendung der Bitterstoffgeschmacksbestimmung nach *R. Wasicky, M. Stern* und *M. Zimet*[2] zu kommen. Diese Versuche sollen im folgenden beschrieben werden.

Über unsere Versuche zur Bestimmung der einzelnen Bitterstoffe Lactucin und Lactucopikrin, vor allem auf Grund der Reduktionsfähigkeiten in alkalischem Medium und der gleichzeitigen Gelbfärbung, werden wir später berichten.

Die degustative Methode von *Wasicky* und Mitarbeitern[2] wird nach folgender Vorschrift durchgeführt:

Ungefähr 0,01 g Brucin wird genau abgewogen, im Wägeglas in wenig Alkohol gelöst, mit Trinkwasser verdünnt und quantitativ unter Nachspülen mit Trinkwasser in einen 1000 ccm fassenden Meßzylinder gebracht. Man verdünnt nun die Lösung soweit mit Wasser, daß eine Brucinlösung 1 : 50000 entsteht. 0,01 g Brucin würde in dieser Weise 500 ccm Lösung ergeben. In einem zweiten Meßzylinder von 1000 ccm Inhalt stellt man eine Brucinlösung 1 : 4000000 durch Eingießen von 12,5 ccm der konzentrierten Brucinlösung in etwa 500 ccm Trinkwasser und Auffüllen mit Wasser auf 1000 ccm her. Aus dieser Stammlösung erhält man die unmittelbar zur Geschmacksprüfung verwendeten Verdünnungen durch Zufügen von 5%, 10% usw. an Wasser zur Stammlösung. Zu diesem Zweck bringt man in vier Meßzylinder von je 150 ccm Fassungsraum je 100 ccm der Stammlösung und setzt in den ersten

[1] *A. W. Forst*: l. c.

[2] *R. Wasicky, M. Stern* und *M. Zimet*: Bull. Fédérat. Intern. Pharm. **12**, 92 (1931); Pharmaz. Presse, Wissensch.-prakt. Beihefte **38**, 20 (1933).

Zylinder 5 ccm, in den zweiten 10 ccm, in den dritten 15 ccm und in den vierten 20 ccm Wasser zu, so daß nach Durchschütteln Brucinverdünnungen 1 : 4200000, 1 : 4400000, 1 : 4600000 und 1 : 4800000 erhalten werden. Nunmehr spült man den Mund mit Wasser aus, kostet 5 ccm der Brucinlösung 1 : 4800000 derart, daß die Lösung 1 Minute lang im Mund bewegt wird und alle Teile des Mundes gleichmäßig mit der Flüssigkeit in Berührung kommen, dann spuckt man die Lösung aus und spült den Mund gründlich mit Wasser. Nach 10 Minuten wird die der Konzentration nach folgende Lösung in der gleichen Weise geprüft und so die Untersuchung der stärkeren Konzentrationen fortgesetzt, bis eine Konzentration als *zweifelhaft*, die nächstfolgende als *deutlich* bitter empfunden wird. Meist erfolgt dies bei den Konzentrationen 1 : 4200000 bis 1 : 4600000. Gleichzeitig stellt man aus der zu untersuchenden Droge oder aus dem zu untersuchenden Extraktpräparat in der bei den einzelnen Heilmitteln im Text des Arzneibuches angegebenen Weise eine Stammlösung her. Aus dieser fertigt man in gleicher Weise wie aus der Brucinlösung abgestufte Verdünnungen an und untersucht, von der größten Verdünnung ausgehend, welche Konzentration gerade noch deutlich bitter empfunden wird. Die Verdünnungszahl der letzteren, dividiert durch jene der stärkstverdünnten gerade noch deutlich empfundenen Brucinlösung, ergibt mit 100000 multipliziert die Bitterzahl des geprüften Heilmittels (Bitterzahl des Brucins willkürlich mit 100000 festgesetzt).

Nach dieser Methode wurden zunächst mit 20 Versuchspersonen zahlreiche Versuche unter Verwendung von Brucin und Chinin durchgeführt. Aus dieser Schar wurden fünf Personen ausgewählt, deren Geschmacksangaben zu reproduzierbaren übereinstimmenden Werten führten. Diese fünf Personen erlangten mit fortschreitender Übung eine große Sicherheit in der Geschmacksangabe. Wir hielten darum bei allen späteren Untersuchungen an der Erfahrung fest, daß es besser sei, Untersuchungen durch eine kleine Zahl geübter als durch eine große Zahl ungeübter Leute durchführen zu lassen.[1]

Schwierigkeiten bereitete die Angabe des „deutlich bitteren Geschmacks". Die gleiche Konzentration wurde an verschiedenen Tagen als „deutlich bitter" oder als „nicht bitter" oder sogar als „stark bitter" bezeichnet, obwohl bei allen Versuchen stets darauf geachtet wurde, daß die Temperatur der Lösungen nur zwischen 16 und 18° schwankte und genügend Zeit zwischen den einzelnen Proben gelassen wurde.

Wir führten daher die Bestimmung der Endkonzentration so durch, daß die Versuchsperson gleichzeitig mit den 5 ccm der verdünnten Brucinlösung noch 5 ccm Trinkwasser erhielt und prüfen mußte, welches die Brucinlösung und welches das Trinkwasser sei. Wurde von einer Ver-

[1] *E. v. Shramlik*: Handb. d. Physiol. d. niederen Sinne, Bd. I, Leipzig. 1926.

suchsperson bei beiden Flüssigkeiten kein bitterer Geschmack mehr wahrgenommen, oder sogar, was auch vorkam, das Trinkwasser als bitter bezeichnet, so schied die Versuchsperson aus und die um 5% höhere Konzentration der Brucinlösung wurde für die betreffende Versuchsperson als Endkonzentration bezeichnet. Es war dabei ohne Einfluß auf das Ergebnis, ob die Verdünnungen in der Reihenfolge von bitter nach nichtbitter oder in umgekehrter Reihenfolge zur Prüfung gegeben wurden.

Als äußerste Endkonzentrationen wurden in zahlreichen Versuchen erreicht:

Brucinlösung 1 : 15500000,
Chininhydrochlorid 1 : 225000.

Es ergab sich im Laufe der Untersuchungen, daß sich zum Geschmacksvergleich mit den *Lactuca*bitterstoffen das Chinin besser eignet als das Brucin.

Zur Bestimmung der Bitterzahl in den aus dem frischen Milchsaft von *Lactuca virosa* bereiteten Präparaten wurde jeweils eine Lösung des Präparats mit Trinkwasser 1 : 100000 bereitet und davon ausgehend wurden die Verdünnungen hergestellt. Je 100 ccm der Ausgangskonzentration wurden mit 5 ccm, 10 ccm, 15 ccm, 20 ccm usw. Trinkwasser vermischt, bis die Endkonzentration erreicht wurde. Tabelle I zeigt die Endkonzentrationen von Brucin und Chinin sowie von zwei aus verschiedenen Ernten stammenden Präparaten aus dem frischen Milchsaft von *Lactuca virosa*.

Tabelle I.

Versuchsperson	Brucin	Chininhydrochlorid	Präparat *A*	Präparat *B*
Zimmermann (m) ...	1 : 12500000	1 : 215000	1 : 125000	1 : 140000
Honacker (m).....	1 : 13500000	1 : 210000	1 : 130000	1 : 140000
Humm (m).....	1 : 14000000	1 : 210000	1 : 125000	1 : 140000
Vondung (fem).....	1 : 14000000	1 : 220000	1 : 135000	1 : 145000
Bock (m).....	1 : 15500000	1 : 225000	1 : 135000	1 : 145000

Die Bitterzahlen werden ermittelt, indem die Endkonzentrationen der Präparate durch die Endkonzentrationen von Brucin bzw. Chinin dividiert und die erhaltene Bruchzahl bei Brucin mit 100000, bei Chininhydrochlorid mit 1000 multipliziert wird. In Tabelle II sind die aus Tabelle I berechneten Bitterzahlen zusammengestellt.

Das Präparat *A* enthielt 6,62%, das Präparat *B* 4,35% Wasser. Daraus errechnen sich für die wasserfreie Substanz die Bitterzahlen:

Präparat *A*: für Brucin 1000; für Chinin 641,
„ *B*: „ „ 1071; „ „ 686.

Tabelle II.

Versuchsperson	Bitterzahlen für Brucin		Bitterzahlen für Chininhydrochlorid	
	Präparat *A*	Präparat *B*	Präparat *A*	Präparat *B*
Zimmermann (m).....	1000	1120	581	651
Honacker (m).....	963	1073	619	666
Humm (m).....	893	1000	595	666
Vondung (fem).....	964	1036	613	659
Bock (m).....	871	935	600	644
	938	1026	601	657

Die Differenz der Bitterzahlen der Präparate *A* und *B* beträgt 7,1%. Das Präparat *B* enthält also um 7% mehr Bitterstoffe als das Präparat *A*.

Dieses Ergebnis wurde durch eine pharmakologische Kontrollanalyse von *Forst* bestätigt. Eine weitere Bestätigung erfuhr das Ergebnis durch die Resultate der präparativen Isolierung, über welche in Kürze an anderer Stelle (nicht mikrochemischen Inhalts) berichtet werden wird.

Zusammenfassung.

Die Bitterwertbestimmung nach *R. Wasicky* und Mitarbeitern eignet sich zur Bestimmung des Gesamtbitterstoffgehalts von Präparaten aus dem Milchsaft von *Lactuca virosa*.

Summary.

R. Wasicky's and his collaborators' method of evaluating bitters is suitable for the determination of the total contents of bitter principles of preparations derived from the milky juice of „*lactuca virosa*".

Résumé.

L'appréciation des amers d'après *R. Wasicky* et ses collaborateurs peut être utilisée pour déterminer la teneur en amers totaux de préparations à base du suc laiteux de „*lactuca virosa*".

Aus dem Institut für anorganische Chemie der Universität Cernăuți.

Beiträge zum mikrochemischen Nachweis und zur mikrochemischen Bestimmung des Bleis.

Von

N. D. Costeanu.

(Eingegangen am 30. März 1938.)

Eine Methode, welche mit verschiedenen Salzlösungen getränktes Filterpapier zu einigen Reaktionen gebrauchte, wurde von mir zum Nachweis und zur Bestimmung mineralchemischer Elemente verwendet und mehrfach publiziert.[1] Dieselbe Methode habe ich nunmehr auch zum mikrochemischen Nachweis und zur mikrochemischen Bestimmung des Bleis verwendet.

Zu diesem Zwecke wurden Vergleichslösungen von Bleinitrat durch Lösen von Blei in Salpetersäure hergestellt. Mit diesen Lösungen wurden Streifen von Filterpapier getränkt; als Reagens bewährte sich am besten Jodwasserstoffsäure.

Vergleichslösungen: Man löst 1 g chemisch reines Blei in Salpetersäure und verdünnt diese Lösung zu 1 l mit Wasser. 1 ccm dieser Lösung enthält 1 mg Blei. Dieser Lösung werden je 10 ccm entnommen und mit verschiedenen Mengen Wasser zu bestimmten Volumen verdünnt, so daß folgende Vergleichslösungen entstehen:

Vergleichslösung	I	enthält	je	ccm	1	mg	Blei
,,	II	,,	,,	,,	0,5	,,	,,
,,	III	,,	,,	,,	0,1	,,	,,
,,	IV	,,	,,	,,	0,05	,,	,,
,,	V	,,	,,	,,	0,01	,,	,,

Natürlich kann man Lösungen mit anderem, dazwischenliegendem Gehalt an Blei herstellen.

Mit jeder dieser Vergleichslösungen werden Filterpapierstreifen sorgfältig getränkt, die an der Luft oder im Trockenschrank getrocknet werden.

[1] *N. D. Costeanu*: Bull. Soc. Chim. France **3**, 1527 (1936); Bull. Soc. Chim. France **4**, 1800 (1937); Journ. Pharm. Chim. **25**, 101 (1937); Bodenkunde u. Pflanzenernährung **4**, 49 (1937); Mikrochimica Acta **3**, 136 (1938).

Man erhält so 5 Streifen Vergleichspapiere, die den 5 Vergleichslösungen entsprechen.

Das Reagens: Die Jodwasserstoffsäurelösung, die sich als Reagens am besten bewährt hat, wird dargestellt durch Einleiten von Schwefelwasserstoff in ein Gemisch von Jod und Wasser. Nach dem Filtrieren der Lösung wird sie zum Vertreiben des H_2S-Überschusses gekocht. Diese Lösung wird dann im Dunkeln und luftdicht verschlossen aufbewahrt.

Die Vergleichsreihe. Auf jeden der 5 Vergleichsstreifen wird mit Hilfe eines Tropfröhrchens je 1 Tropfen des Reagens gebracht. Es entsteht sofort auf jedem Streifen ein runder gelber Fleck von Bleijodid, das sich in den Poren des Filterpapiers niederschlägt. Die Farbintensität der Flecke auf der Vergleichsreihe wird dem fallenden Bleigehalt entsprechend der Reihe nach immer schwächer, derart, daß die Flecke der Vergleichslösung I am kräftigsten und die der Lösung V am schwächsten gefärbt erscheinen. Somit kann man die den einzelnen Vergleichslösungen entsprechenden Farbflecke deutlich voneinander unterscheiden.

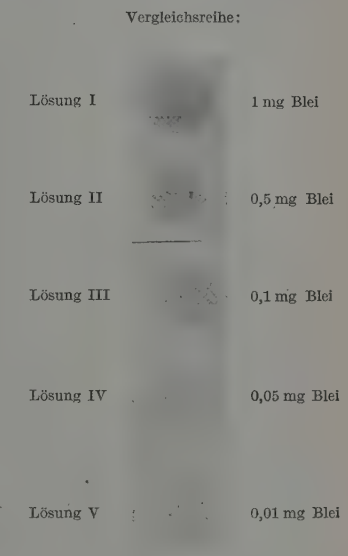


Abb. 1.

Nach ihrer Farbintensität eingereiht bilden diese Farbflecke eine Vergleichsreihe, die den 5 Vergleichslösungen entspricht.

Die Reproduktion der Vergleichsreihe kann zwar nicht die Nuancen der Flecke wiedergeben, aber man kann dennoch die Unterschiede der einzelnen Flecke feststellen.

Die Empfindlichkeit der Reaktion. Aus der Oberfläche des mit der verdünntesten Lösung getränkten Filterpapiers (Vergleichslösung V) und der Menge der zum Tränken des Filterpapiers verwendeten Lösung berechnet man die in 1 qcm enthaltene Bleimenge. Der von einem Reagenstropfen erzeugte Fleck entspricht 0,00015 mg Pb.

Man kann sonach mit dieser Methode noch ein Zehntausendstel Milligramm Blei nachweisen und bestimmen.

Arbeitsgang. Das nach dem Entfernen anderer Elemente erhaltene Bleisalz wird in Nitrat verwandelt, in ganz wenig Wasser gelöst und zu einem bestimmten Volumen verdünnt. Ein Stück Filterpapier wird mit dieser Lösung sorgfältig und gleichmäßig getränkt und nachher an der Luft oder im Trockenschrank getrocknet. Auf dem so vorbe-

reiteten Papier wird mit einem Tropfen Reagens der gelbe Farbfleck erzeugt.

Auf den daneben vorbereiteten Vergleichspapieren werden mit demselben Reagens ebenfalls Farbflecke erzeugt, um eine frische Vergleichsreihe zu erhalten. Ein Fleck der Vergleichsreihe wird in der Farbintensität mit dem Fleck der zu untersuchenden Lösung gleich sein. Da die in dem Farbfleck der Vergleichsreihe enthaltene Bleimenge bekannt ist, erfährt man so die Bleimenge auch im Farbfleck der untersuchten Lösung, da die Färbung beider Flecke gleich ist.

Aus dem Bleigehalt je Kubikzentimeter der Vergleichslösung wird auf einfache Weise die Gesamtmenge an Blei in der untersuchten Lösung errechnet.

Beispiel: Bestimmung der Bleispuren im Messing.

Einwaage der Legierung: 0,4 g.

Nach Abtrennung des Kupfers, Zinks und anderer Elemente wurde das Blei in Nitrat verwandelt, in 2 ccm Wasser gelöst und mit dieser Lösung ein Farbfleck erhalten, der in der Vergleichsreihe mit dem Farbfleck aus der Vergleichslösung IV identisch war. Je Kubikzentimeter enthielt diese Lösung 0,05 mg Pb, also auch die untersuchte Lösung ebensoviel; das sind für die gesamte Lösung $2 \times 0{,}05 = 0{,}1$ mg Pb, demnach $0{,}025\%$ g Pb in der Legierung.

Zusammenfassung.

Man bringt einen Tropfen aus einer HJ-Lösung auf ein Stück Filterpapier, das mit der zu untersuchenden Lösung getränkt und nachher an der Luft oder im Trockenschrank getrocknet wurde. Den entstandenen Farbfleck vergleicht man mit den Flecken der Vergleichsreihe, die mit verschiedenen Lösungen bekannter Konzentration erhalten wurde. In dieser Reihe wird ein gleichgefärbter Fleck gesucht und so der Bleigehalt in der untersuchten Lösung gefunden.

Summary.

One drop of a hydriodic acid solution is transferred on a piece of filter paper which has been drenched with the solution to be tested and has been dried in the open air or in a drying oven. The coloured spot formed is compared with the spots of the standard scale which has been obtained with several solutions of known concentration. The lead content of the solution tested is found by choosing, from the scale, a spot of similar hue.

Résumé.

On laisse tomber une goutte d'acide iodhydrique sur une tranche de papier-filtre imbibée de la solution à déterminer et séchée ensuite à l'air ou à l'étuve.

On compare la tâche obtenue à celle de l'échelle étalon obtenue de la même manière, à l'aide des différentes solutions à concentration connue.

On établit ainsi la tâche de même couleur et on en déduit le contenu en plomb de la solution à déterminer.

Laboratorio chimico del R. Istituto Tecnico Commerciale Mercantile, Salerno.

Microchemical Recognition of Pigments from Paintings.

By

S. Augusti.

(Eingegangen am 31. März 1938.)

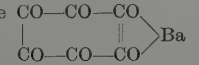
In recent years many scientific methods for the examination of paintings have been suggested.[1] Though any method may be useful in a particular instance, I believe that chemical analysis should always be employed as a complement to other observations. In the examination of paintings, chemical analysis is only qualitative in scope. It is for the recognition of the kind of material originally used, and it is not concerned with quantitative relationships. Obviously, however, in the chemical examination of such materials ordinary methods of qualitative analysis cannot be used, for in the examination of works of art the size of the sample taken for analysis must be reduced to a minimum. Microchemical technique has made enormous advances in recent years, and it should be adopted for this type of examination. There are many methods both certain and facile, that require only a very small amount of material and serve for dependable and rapid microchemical identification of mineral pigments from paintings. Such methods, however, apply only to the recognition of single pigments and not to their separation. I have already described a procedure which allows for the microchemical recognition of pigments.[2]

[1] Good articles on this subject are those by *J. F. Cellerier*: Les Méthodes Scientifiques en usage dans l'examen des Peintures, Mouseion **13**—**14**, 3 (1931), and by *W. Graeff*: L'Examen des Peintures et les Moyens Optiques, Mouseion **13**—**14**, 21 (1931).

[2] The original work in Italian has been published in four articles under the title „Metodo sistematico per il riconoscimento microchimico dei colori minerali", with a summary in German under the title „Systematische Methode zur mikrochemischen Erkennung der Mineralfarben", in Mikrochemie, **17**, Nota 1 (1935): Colori bianchi, p. 1; Nota 2: Colori azzurri e verdi, p. 344; **19**, Nota 3 (1936): Colori gialli, p. 230; **20**, Nota 4 (1936): Colori rossi, bruni e neri, p. 65.

A Spanish translation of this work has appeared under the title „Marcha Sistematica para el Reconocimiento Microquimico de los Colores Minerales", in Revista del Colegio de Farmaceuticos Nacionales, **3**, 2 (March, 1936); 1: Colores Blancos, p. 15; **3**, 3 (Sept., 1936); 2: Colores Azules y Verdes, p. 150; **4**, 3 (Sept., 1937); 3: Colores Amarillos, p. 151. The last part will be published in a next number.

Table I.

Cation sought	Reagent used	Reaction observed	Type of the reaction	Sensitiveness of the reaction in γ	Pigments indicated
Pb^{++}	a) potassium iodide and stannous chloride	Red-orange precipitate of the complex salt $2\,PbI_2 \cdot SnI_2$	Drop reaction	10	Lead white, Mülhausen white, Chrome yellow, Litharge, Massicot, Naples yellow, Chrome red, Minium
	b) acetic acid, copper acetate and potassium nitrite	Dark brown, almost black cube-like crystals of the triple nitrite of potassium, copper and lead $K_2Pb[Cu(NO_2)_6]$	Microscope reaction	0,03	
Ca^{++}	a) ammonium ferrocyanide	White precipitate of calcium and ammonium ferrocyanide $Ca(NH_4)_2[Fe(CN)_6]$	Drop reaction	25	Chalk Gypsum
	b) sodium sulphate	Needle-like, and later dovetail-end crystals of calcium sulphate $CaSO_4 \cdot 2H_2O$	Microscope reaction	0,04	
Zn^{++}	a) ammonium mercuric thiocyanate	Needle-like, rhombic and dendritic crystals of zinc mercuric thiocyanate $Zn[Hg(SCN)_4]$	Microscope reaction	0,1	Zinc white Lithopone Zinc yellow
	b) the same	White precipitate of zinc mercuric thiocyanate	Drop reaction	0,3	
	c) the same, in the presence of the copper sulphate	Violet precipitate of a mixture of zinc mercuric thiocyanate $Zn[Hg(SCN)_4]$ and copper mercuric thiocyanate $Cu[Hg(SCN)_4]$	Drop reaction	0,2	
Ba^{++}	a) sulphuric acid	Crossed needles or rectangular, slab-like crystals of barium sulphate $BaSO_4$	Microscope reaction	0,05	Baryta white Lithopone
	b) sodium rhodizonate	Brown or reddish-brown stain of barium rhodizonate 	Drop reaction	0,25	Baryta yellow
Fe^{+++}	a) potassium thiocyanate	Intense blood-red coloration of ferric thiocyanate $Fe(SCN)_3$	Drop reaction	0,25	Prussian blue, Terre verte, Yellow ochre, Red ochre, English red, Indian red, Sienna, Umber
	b) potassium ferrocyanide	Intense blue precipitate of ferric ferrocyanide $Fe_4[Fe(CN)_6]_3$	Drop reaction	0,1	

Al^{+++}	sulphuric acid and potassium chloride	Large crystals of potassium and aluminium sulphate (potassium alum) $KAl(SO_4)_2 \cdot 12\ H_2O$	Microscope reaction	0,1	Ultramarine
Cu^{++}	a) ammonium mercuric thiocyanate	Yellow-brown crystals of copper mercuric thiocyanate $Cu[Hg(SCN)_4]$	Microscope reaction	0,1	Blue verditer Bremen blue
	b) lead acetate; acetic acid, ammonium acetate and potassium nitrite	Dark brown, almost black cube-like crystals of the triple nitrite of potassium, copper and lead $K_2Pb[Cu(NO_2)_6]$	Microscope reaction	0,03	Green verditer Bremen green Emerald green Scheele's green
Co^{++}	ammonium mercuric thiocyanate	Blue crystals of cobalt mercuric thiocyanate $Hg[Co(SCN)_4]$	Microscope reaction	0,01	Smalt, Cobalt blue, Cobalt green
Cr^{+++}	strychnine and sulphuric acid	Violet-blue coloration which turns red	Drop reaction	0,3	Viridian
CrO_4^{--}	The same	The same	Drop reaction	0,9	Chrome yellow, Baryta yellow, Zinc yellow, Chrome red
As^{+++}	silver nitrate (after previous oxidation with hydrogen peroxide)	Red-brown precipitate of silver arsenate Ag_3AsO_4	Drop reaction	6	Orpiment Realgar
Cd^{++}	a) diphenylcarbazide in the presence of potassium iodide and potassium thiocyanate	Violet precipitate of the cadmium salt of the diphenylcarbazide	Drop reaction	8	Cadmium yellow
	b) rubidium chloride	Rhombohedral crystals and hexagonal plates of chloride of cadmium and rubidium $Rb_4[CdCl_6]$	Microscope reaction	0,01	
Hg^{++}	a) diphenylcarbazide	Violet-blue precipitate of the mercuric salt of the diphenylcarbazide	Drop reaction	0,1	Vermilion or Cinnabar
	b) ammonium thiocyanate and cobalt nitrate	Blue crystals of cobalt mercuric thiocyanate $Hg[Co(SCN)_4]$	Microscope reaction	0,04	
Mn^{++}	strychnine and sulphuric acid	Violet-blue coloration which turns red	Drop reaction	0,18	Sienna, Umber, Manganese bistre

The method is based on the use of reactions under the microscope and of drop reactions. I have chosen, as far as possible, inorganic reactions since they require reagents which are easier to prepare and to keep than are many of the organic reagents. The reactions carried out with the microscope and the drop reactions I have mentioned are both very sensitive and specific. Moreover, the tests for the anions and cations given are selected on a basis of minimum interference by other ions that may occur in the same specimen.

In the table below are summarized the reactions which I consider the best for this purpose; the relative sensitivities of the reactions are expressed in γ (1 γ = 0,001 milligram = 0,000001 gram).

The data in the preceeding table show that the microscope reactions (sensitivities between 0,01 γ and 0,1 γ) are more sensitive than the drop reactions (sensitivities between 0,1 γ and 25 γ). The drop reactions, however, are more simple and more rapid. In each instance the sensitivity of the reaction described is remarkably high and it is, in fact, much higher than it is necessary to detect the amount of pigment ordinarily available in the examination of works of art.

In addition to the reactions indicated in the preceeding table, I have described others such as the detection of Cu^{++} with ammonia, or with potassium ferrocyanide, or with potassium ferrocyanide in the presence of ammonia, or with ammonium mercuric thiocyanate in the presence of the zinc acetate[1] and as the detection of Mn^{++} and Cr^{+++} by fusion with sodium carbonate and potassium nitrate. Some of these tests are practicable only when a fair quantity of the test specimen is available. They are useful for confirming the drop reactions or microscopic reactions previously described, but they are not indispensable for the recognition of these cations.

The preparation of a sample for chemical analysis must be conducted with the greatest dexterity to avoid damage to the picture. When the method is followed properly, it is not possible to detect the place where the chemist has taken it.[2] With the aid of a microscope[3] the place is chosen from which the sample should be taken. Here the surface is moistened and the varnish dissolved with a small wad of cotton wool soaked in alcohol and held by a pair of forceps, or with a small brush of very thin, short bristles. Then by means of a needle, under the microscope, a small

---

[1] *S. Augusti*: Mikrochimica Acta **2**, 47 (1937).

[2] Vide *F. E. C. Sheffer*: L'Examen Chimique des Tableaux, Mouseion, **13—14**, 93 (1931).

[3] A binocular microscope is best adapted to this purpose. It should be focused directly on the picture and so it must be removed from its stand. The magnification necessary is low (between 10 and 30 diameters).

fragment of paint film is lifted and put on an object slide.[1] If the operation has been carried out in the prescribed manner and if the grains of pigment have been neatly detached, the place selected is hardly visible to the naked eye.[2] It should be mentioned, however, that if the picture under observation is an old oil painting, it may resist treatment with alcohol; if it is a modern oil painting, the alcohol may soften the oil film. Now and then the grains of pigment are not completely separated but remain united in a compact mass. In such cases it is advisable to resort to a stronger solvent. The behaviour to successive solvents usually gives some hint as to the chemical composition of the paint film.[3] The sample lifted then undergoes microscopic examination.

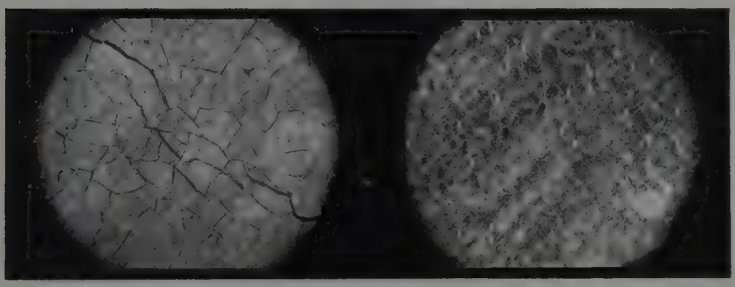


Figure 1. Yellow pigment. Figure 2. Red pigment.

A microscopic examination of the conformation and of the crackle of the paint film should be made before choosing the place from which the sample for chemical analysis is taken. Photomicrographs 1 and 2 show the appearance of the surface of the paint film of an oil painting under the microscope.

The photomicrographs reproduced are from an oil painting of Filippo Lippi in the painting department of the picture gallery of the Royal National Museum of Naples.

Mineral pigments may be divided according to color: white, blue, green, yellow, red, brown, and black.

Their systematic identification, as I have described,[4] is based on

[1] To avoid the loss of small samples of pigment, put a drop of xylol on the object slide and then deposit the particle of pigment which adheres to the point of the needle. The xylol evaporates quickly and the specimen is left on the glass.

[2] With a little practice, one can easily detach a small sample of pigment merely under a magnifying glass.

[3] *Sheffer* (loc. cit.) advises a treatment with sodium hydroxide in cases where the varnish is not dissolved with alcohol. This substance, however, produces in many pigments a chemical transformation, and I maintain that the method should be completely discarded. Since only a small quantity of material is available for examination, it should not be entirely destroyed by such a reagent.

[4] Vide Footnote 2, pag. 239.

Table II. The pigments commonly used in pictures are:[1]

Pigments	Chemical composition	Cations and anions to be sought
White pigments:		
Lead white	Basic carbonate of lead	Pb^{++} and CO_3^{--}
Chalk	Calcium carbonate	Ca^{++} and CO_3^{--}
Zinc white	Oxide of zinc	Zn^{++}
Gypsum or plaster of Paris	Calcium sulphate	Ca^{++} and SO_4^{--}
Lithopone	A mixture of barium sulphate and zinc sulphide	Zn^{++}, Ba^{++}, SO_4^{--}, S^{--}
Mülhausen white	Lead sulphate	Pb^{++} and SO_4^{--}
Baryta white	Barium sulphate	Ba^{++} and SO_4^{--}
Green pigments:		
Green verditer, malachite or mountain green	Basic copper carbonate	Cu^{++} and CO_3^{--}
Bremen green	Copper hydroxide	Cu^{++}
Emerald green or Schweinfurt green	Copper aceto-arsenite	Cu^{++}, As^{+++}, and CH_3COO^-
Scheele's green	Copper arsenite	Cu^{++} and As^{+++}
Cobalt green	Cobalt zincate	Co^{++}
Terre verte	A magnesium clay colored with ferrous silicate	Fe^{++}
Viridian	Transparent oxide of chromium	Cr^{+++}
Chrome green	A mixture of chrome yellow and Prussian blue	Pb^{++}, CrO_4^{--}, and Fe^{+++}
Other green pigments	Mixtures of blue and yellow pigments	Recognition of the individual components
Blue pigments:		
Prussian blue	Ferric ferrocyanide	Fe^{+++}
Ultramarine	A mixture of sodium aluminium silicate and sodium sulphide	Al^{+++} and S^{--}
Blue verditer, azurite, or mountain blue	Basic copper carbonate	Cu^{++} and CO_3^{--}
Bremen blue	Copper hydroxide	Cu^{++}
Cobalt blue	Cobalt aluminate	Co^{++}
Smalt	Potassium and cobalt silicate	Co^{++}
Yellow pigments:		
Chrome yellow	Lead chromate	Pb^{++} and CrO_4^{--}
Zinc yellow	Zinc chromate	Zn^{++} and CrO_4^{--}

[1] Some have been used in the past but are not commonly used today; others have been used only within recent years.

Pigments	Chemical composition	Cations and anions to be sought
Baryta yellow	Barium chromate	Ba^{++} and CrO_4^{--}
Orpiment	Arsenic trisulphide	As^{+++}
Litharge	Lead monoxide	Pb^{++}
Massicot	Lead monoxide	Pb^{++}
Cadmium yellow	Cadmium sulphide	Cd^{++} and S^{--}
Yellow ochre	A mixture of clay and hydrated ferric oxide	Fe^{+++}
Naples yellow	Basic lead antimoniate	Pb^{++} and SbO_4^{---}
Red pigments:		
Vermilion or cinnabar	Mercuric sulphide	Hg^{++}
Antimony vermilion	Antimony sulphide	Sb^{+++} and S^{--}
Minium or red lead	Lead tetroxide	Pb^{++}
Chrome red	Basic lead chromate	Pb^{++} and CrO_4^{--}
Realgar	Arsenic sulphide	As^{+++}
English red	Ferric oxide	Fe^{+++}
Indian red or haematite	Ferric oxide containing a variable quantity of silica and silicates	Fe^{+++}
Red ochre	A mixture of clay and ferric oxide	Fe^{+++}
Brown pigments:		
Cassel earth	A kind of earthy mud composed principally of humus and carbonaceous material	Ignition
Sienna	A type of ochre containing a small quantity of manganese oxide	Mn^{++} and Fe^{+++}
Umber	A type of ochre containing a great quantity of manganese oxides	Mn^{++} and Fe^{+++}
Bistre or soot brown	Carbon	Ignition
Manganese bistre	Hydrated manganese dioxide	Mn^{++}
Black pigments:		
Graphite	Carbon base black	Ignition
Lamp black or soot black	,, ,, ,,	,,
Vegetable black	,, ,, ,,	,,
Animal black	,, ,, ,,	,,
Mineral black	,, ,, ,,	,,

responses to general reagents (dilute nitric acid for white and yellow pigments; dilute hydrochloric acid for green and red pigments; sodium hydroxide for blue pigments) or on their behaviour when heated (brown and black pigments). The investigation of each pigment should include a microchemical study of the cations and anions components, with drop

reactions and microscope reactions. This should be followed, in the case of some pigments, by a study of their responses to various solvents, to sodium hydroxide, to ignition, and to other agencies.

Summary.

Many methods for microchemical recognition of pigments from paintings have been proposed in recent years; they apply, however, only to the recognition of single pigments and not to their separation. A procedure which allows for the systematic microchemical recognition and separation of mineral pigments from a picture has been described by the Author. In a table are summarized the reactions considered best for this purpose, with the relative sensitivities; in another table are indicated the cations and anions which are to be sought for the identification of a single pigment. It is also related about the preparation of a sample for the chemical analysis.

Zusammenfassung.

In den letzten Jahren sind viele Methoden zum mikrochemischen Nachweis von Farben von Gemälden vorgeschlagen worden; sie lassen sich jedoch nur zur Erkennung einzelner Farben, nicht aber zu ihrer Trennung anwenden. Vom Verfasser wird nun ein Verfahren beschrieben, das Mineralfarben eines Bildes systematisch auf mikrochemischem Wege nachzuweisen und voneinander zu trennen gestattet. In einer Tabelle sind, neben den entsprechenden Empfindlichkeiten, die Reaktionen zusammengestellt, die für diesen Zweck als die besten erachtet werden; in einer zweiten Tabelle sind die Kationen und Anionen angegeben, die bei der Identifizierung einer einzelnen Farbe aufzusuchen sind. Es wird auch die Vorbereitung einer Probe zur chemischen Analyse beschrieben.

Résumé.

Au cours des dernières années un grand nombre de méthodes fut recommandé pour la détermination microchimique des couleurs sur les tableaux, à l'aide desquelles il était bien possible de déterminer certaines couleurs, mais point de les séparer les unes des autres. L'auteur trouva une méthode, permettant la détermination microchimique des couleurs minérales d'un tableau, ainsi que leur séparation. Une table indique la sensibilité et l'aptitude des différentes réactions, une autre table indique les anions et les cations, dont la recherche est nécessaire pour l'identification de chaque couleur. L'auteur décrit de-même de quelle manière on prépare un échantillon à l'analyse chimique.

Aus dem Institut für analytische Chemie der naturwissenschaftlichen Fakultät der Masaryk-Universität Brünn. Vorstand: Prof. Dr. *J. V. Dubský*.

Über eine Zentrifugenvorrichtung für Mikrogravimetrie.

Von

A. Langer.

(Eingegangen am 1. April 1938.)

Schon in den ersten Anfängen der Mikrogravimetrie war man bestrebt, für das Überführen von Niederschlägen aus dem Fällungsgefäß in das Wägegefäß ein exakteres Verfahren als das in der Makroanalyse übliche Übergießen entlang dem Glasstab zu entwickeln.

So wurden schon von *F. Pregl*[1] die Filterröhrchen mit Heber geschaffen und durch Anwendung von Kapillarhebern durch *F. Holtz*[2] und *O. Wagner*[3] sowie bei dem Apparate von *O. Wintersteiner*[4] dieses Verfahren auch für mikrokristalline Niederschläge anwendbar gemacht. Damit wurden alle Hindernisse beseitigt, die sich bei der Verwendung von Hebern zeigten. Diese Apparate sind jetzt allgemein im Gebrauch.

Die vorteilhafte Verwendung der Zentrifuge in der qualitativen Analyse, die sich als ausgezeichnetes Hilfsmittel zur raschen Trennung von festen und flüssigen Phasen erwies, ließ auch ihre Verwendbarkeit für die Gravimetrie vermuten, wie dies in einigen Abhandlungen bestätigt wird.

Schon *F. Pregls* „Zentrifugalnutsche“,[5] ein Röhrchen, das auf einer Seite durch einen Stöpsel geschlossen und in der Mitte zur Aufnahme der Filterfläche eingeschnürt ist, stellt das Prototyp eines solchen Apparates dar. Man kann hierin die Niederschläge nicht nur fast ohne Verlust isolieren, sondern auch gut waschen. Wenn auch nur für qualitative Arbeiten vorgeschlagen, ist der Apparat in dieser einfachen Form auch für quantitative Bestimmungen ohne jede Änderung verwendbar.

Für quantitatives Arbeiten geeignete Vorrichtungen beschreiben *F. Steinitzer*[6] und *A. Friedrich*.[7] Es sind dies dem normalen Zentrifugenröhrchen ähnliche Röhrchen, die mit einer abnehmbaren Kappe versehen sind, in der der Niederschlag gesammelt und auch gewogen wird. Kappe und Röhrchen sind bei *A. Friedrich* durch Schliffflächen verbunden. Den Nachteil dieser Schliffe,

[1] *F. Pregl (H. Roth)*: Die quantitative organische Mikroanalyse. 4. Aufl., Berlin. 1935. S. 117.
[2] *F. Holtz*: Ber. Dtsch. chem. Ges. **55**, 1496 (1922).
[3] *O. Wagner*: Ztschr. angew. Chem. **36**, 494 (1923).
[4] *O. Wintersteiner*: Mikrochemie **2**, 14 (1924).
[5] *F. Pregl*: Mikrochemie **2**, 76 (1924).
[6] *F. Steinitzer*: Ztschr. analyt. Chem. **41**, 100 (1902).
[7] *A. Friedrich*: Mikrochemie, *Pregl*-Festschr., 103 (1929).

die gekittet werden müssen, damit sie nicht springen, beseitigte *S. D. Elek*,[1] der die beiden Teile mit einer hohlen Schraube mit Mutter befestigt. Die Schraube ist zerschnitten, so daß alle Teile leicht abnehmbar sind.

Die abnehmbare Kappe bietet vor der Verwendung kleiner Zentrifugenröhrchen, wie sie *F. W. Rixon*,[2] *E. Gartner*[3] und andere Forscher vorschlugen, den Vorteil, daß man mit größeren Flüssigkeitsmengen arbeiten kann, ohne daß das Gewicht des mitgewogenen Gefäßes zu groß wird. Die Bestimmung gestaltet sich in diesen Fällen folgendermaßen: Der entstandene Niederschlag wird zentrifugiert, die klare Flüssigkeit entweder mit einem Heber oder vorsichtshalber mit einem Filterstäbchen abgesaugt, dann der Niederschlag mit der Waschflüssigkeit durchgerührt, zentrifugiert, abgesaugt und diese Manipulation, wenn nötig, wiederholt. Oft wird dann mit dem Ende des Hebers zusammen gewogen. Bei Verwendung von Quarz können auch Niederschläge bestimmt werden, die geglüht werden müssen.

D. F. Horuston[4] und auch *C. R. Johnson*[5] konstruierten eine Filterröhre nach einem anderen Prinzip. Sie besteht in der Hauptsache aus einem Tiegel mit porösem Boden, der auf ein Gefäß aufgesetzt ist. Der Vorteil dieser Vorrichtung ist, daß die Mutterlauge und Waschflüssigkeiten abgeschleudert und gesondert aufgefangen werden können.

Man sieht, daß die hier nur kurz geschilderten Apparate noch keineswegs allen Anforderungen entsprechen, die man im Interesse eines raschen und sicheren Arbeitens stellen muß. Es wird deshalb im nachstehenden versucht, eine Vorrichtung, die alle Vorteile der früheren Apparate ausnützen und manche Nachteile vermeiden soll, zu beschreiben.

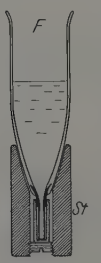


Abb. 1. Fällungsröhrchen (*F*) mit kleiner Platinröhre im Ständer (*St*).

Schon im Jahre 1934 wurde mir die Aufgabe gestellt, eine Methode zu überprüfen, die zum Einfüllen von Radiumsulfat in kleine Radiophore an Stelle der alten, gefährlichen Stopfmethode eine Zentrifuge benutzt. Diese Versuche, welche mit Bariumsulfat ausgeführt wurden, ergaben gute Resultate. Die Konstruktion des Apparates ist aus Abb. 1 ersichtlich. Am verjüngten Ende des Röhrchens war ein Platinansatz mit einem Gewinde eingeschmolzen. Der Radiophor konnte an den Ansatz aufgesetzt und mit Hilfe einer Hülse durch das Gewinde an das Dichtungsplättchen fest angepreßt werden. Diese Vorrichtung wird dann in einen Ständer gesetzt und die untere Schraube im Ständer so eingestellt, daß beim festen Aufliegen des Glasgefäßes die Schraube den Boden der Hülse gerade berührt. Dies ist nötig, damit der Ansatz nicht durch Zug oder Druck aus dem Glas springt.

Mit dieser Vorrichtung gelang es, 5 mg Barium als Bariumsulfat in die Radiophore mit 1,5 mm Öffnung und 12 mm Länge bis auf 0,5%

[1] *S. D. Elek*: Mikrochemie **19**, 129 (1936).
[2] *F. W. Rixon*: Journ. Soc. chem. Ind. **37**, 255 (1919).
[3] *E. Gartner*: Monatsh. Chem. **41**, 490 (1920).
[4] *D. F. Horuston* und *Sh. P. Saylor*: Ind. engin. Chem., Analyt. Ed. **8**, 302 (1936).
[5] *C. R. Johnson*: Vgl. Chem. Ztrbl. **1937 I**, 133.

genau hineinzupressen, wobei Fehler fast ausschließlich beim Pipettieren entstanden. Diese Einrichtung erinnert an die von *Elek* und könnte bei Verwendung größerer Platinröhren sehr wohl zu quantitativen Bestimmungen dienen.

Neuen Versuchen, die von den erwähnten ausgingen, wurde ein weiteres Ziel gesetzt. Der Apparat sollte es nicht nur ermöglichen, die zu bestimmende Substanz im Zentrifugierröhrchen zu lösen, zu erwärmen, sowie den zu bestimmenden Anteil zu fällen, sondern auch den Niederschlag in einen Filtertiegel zu bringen und die abzentrifugierten Flüssigkeiten getrennt aufzufangen.

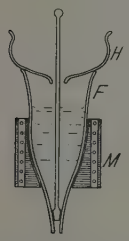


Abb. 2. Fällungsröhrchen (*F*) durch einen Glasstab verschlossen, mit Haube (*H*) versehen und in einen elektrisch geheizten Metallblock (*M*) eingesetzt.

Als Modell wurde — ohne Absicht — *Pregls* Zentrifugalnutsche verwendet. Wenn auch das gestellte Ziel im Grundprinzip bald erreicht wurde, mußten doch die Fällungsröhrchen einige Abänderungen erfahren, ehe sie völlig entsprachen.

Stets hatten die Fällungsröhrchen eine sich nach unten verjüngende Form. Bei den ersten Versuchen wurde die Öffnung durch einen Glasstab mit einem Gummiring oder einer eingeschliffenen Ausbuchtung verschlossen (Abb. 2). Der einzige Nachteil war der, daß sich ganz unten im verjüngten Teil die Reaktionsprodukte mangelhaft durchmischten und sich absetzten. Es mußte deshalb durch Einblasen von Luft mit Hilfe einer dünnen Kapillare für gute Durchmischung gesorgt werden. Da die Schliffe nicht gefettet werden durften und die rauhen Flächen klein gehalten werden mußten, ließen sie leicht Flüssigkeit durch.

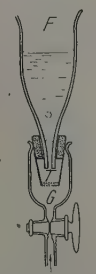


Abb. 3. Fällungsröhrchen (*F*) zum Luftdurchblasen bereit. Das Tiegelchen (*T*) ist auf den Gummipfropfen aufgesteckt und in die Glocke (*G*) mit Hahn gesetzt.

Um diese Mißstände zu beseitigen, wurde das Gefäß gleich einem Fällungsröhrchen nach *J. Donau* geformt. Der untere Teil wurde zu einer dickwandigen Kapillare ausgezogen und durch Einsaugen oder Einblasen von Luft das Herausfließen der Flüssigkeit und der Niederschläge verhindert. Das obere Ende wird mit einem Stöpsel samt Ableitrohr versehen und dann mittels eines Aspirators Luft durchgesaugt. Das untere Ende muß beim Füllen vor Beginn des Saugens verschlossen sein. Der Filtertiegel wird nachher aufgesetzt. Beim Durchblasen muß man den Tiegel vorher ansetzen. Das Ende der Kapillare ist mit einem Stück Schlauch versehen, dessen Dicke so bemessen ist, daß man den Mikro-*Neubauer*-Tiegel leicht aufsetzen kann. Der Tiegel wird in eine Glocke gesteckt (Abb. 3) und mit einem Hahn der Luftzutritt so reguliert, daß

in kleinen Intervallen Blasen durch die Flüssigkeit aufsteigen. Die Luft kann einem Zweiballon-Handgebläse entnommen werden. Das Durchsprudeln der Luft bewirkt zugleich ein gutes Durchmischen der Lösungen.

Um zu verhindern, daß die Flüssigkeit herausspritzt, kann man eine Haube aufsetzen, wie aus Abb. 2 ersichtlich ist. Wenn man in die Öffnung der Haube einen Glasstab einführt, kann die Fläche gut abgespritzt werden. Beim Erwärmen bringt man das Gefäß in einen elektrisch geheizten Metallblock (*M*). Der Block enthält eine Öffnung, die entsprechend der Form des Röhrchens ausgehöhlt ist.

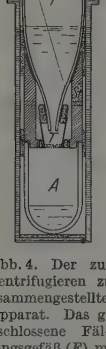


Abb. 4. Der zum Zentrifugieren zusammengestellte Apparat. Das geschlossene Fällungsgefäß (*F*) mit dem Tiegelchen (*T*) in den Ständer (*St*) gesetzt und samt dem Auffangröhrchen (*A*) (mit dem Ständer durch Gummibänder verbunden) in die Metallhülse der Zentrifuge gesteckt.

Am besten bewährte sich aber eine Ausführung, die in Abb. 4 dargestellt ist. Das Fällungsgefäß ist oben geschlossen und nur mit einer seitlichen Öffnung versehen. Das Füllen und Fällen geschieht in waagrechter Stellung, so daß die Flüssigkeit die im Bilde punktierte Lage einnimmt. In dieser Stellung wird auch erwärmt. Es genügt dann eine Neigung wie beim bekannten Filterbecher nach *F. Emich* und *E. Schwarz-Bergkampf*[1] und alles ist zum Zentrifugieren bereit.

Bei allen diesen Konstruktionen ist der Tiegel, wie schon erwähnt, auf einen Gummipfropfen aufgesetzt, und zwar so, daß das Ende des Röhrchens in den Filtertiegel hineinragt. Das hat den Zweck, daß sich beim Zentrifugieren ein Luftpolster bildet, der verhindert, daß sich der Tiegel ganz mit Flüssigkeit füllt.

Nach dem Fällen und Stehenlassen wird je nach Vorschrift die ganze Vorrichtung in einen Ebonitständer eingesetzt, wobei dieser so konstruiert sein muß, daß das Fällungsröhrchen wie auch der Tiegel gut aufsitzen. Es ist also für jede Tiegelgröße ein eigener Ständer nötig. Durch Verschieben des Gummipfropfens am Röhrchen muß immer die gleiche Stellung des Tiegelchens hergestellt werden. Dies ist nötig, damit keine Deformation des Tiegels entsteht.

Der Ständer hat am unteren Umfang eine Nute, in die ein dickwandiges Gefäß *A* mit halbrundem Boden paßt. Dieses dient zum Auffangen der Mutterlauge und Waschflüssigkeit. Seine Größe ist so bemessen, daß es genügend Flüssigkeit aufnimmt und zwar eine Menge, die man am oberen Teil mit einer Marke kennzeichnet. Die gläsernen Teile sind mit dem Ständer durch zwei breitere Gummiringe verbunden, die fest anliegen, so daß *ein* Stück gebildet wird, das leicht in die Metallhülse der Zentrifuge eingefügt, herausgenommen und in seine einzelnen Teile

[1] *E. Schwarz-Bergkampf*: Ztschr. analyt. Chem. **69**, 336 (1926).

zerlegt werden kann. Das Zerlegen geht rasch und ohne Mühe vor sich. Den Ständer versieht man mit einigen Löchern, damit die Luft trotz der verschließenden Gummibänder aus dem unteren Gefäß entweichen kann.

Zur Einwaage der Stoffe hat sich ein eigens konstruiertes Einwaageschälchen bewährt, ähnlich dem schon von *A. A. Benedetti-Pichler*[1] und *W. E. Eskew* und *F. C. Vilbrandt*[2] vorgeschlagenen (Abb. 5). Das Schälchen hat zwei Öffnungen, eine oben und eine seitlich. Nach dem Einwägen kann dann in vertikaler Stellung mit der kleinsten Menge des Lösungsmittels die Substanz in das Gefäß gespült werden. Um zu vermeiden, daß mehr Flüssigkeit verwendet wird als markiert ist, bedient man sich einer Spritzflasche, der nur die vorher festgesetzte Menge entnommen werden kann.

Abb. 5. Einwaageschälchen. (Ein Teilstrich des gezeichneten Maßstabes ist 1 cm für alle Abbildungen.)

Das Zentrifugieren dauert beim Bariumsulfat und bei Verwendung einer elektrisch betriebenen Zentrifuge mit etwa 2000 bis 3000 Umdrehungen je Minute nur einige Minuten. Beim Waschen des Niederschlages ist es nötig, sich eines kleinen Glasstabes mit Gummiring oder des üblichen „Federchens“[3] zu bedienen. Bei Verwendung des geschlossenen Röhrchens ist das Glasstäbchen unten etwas gekrümmt oder das Federchen an einem steiferen Draht befestigt.

Es ist vorteilhaft, beim Waschen das Zentrifugieren zu unterbrechen und das Reiben an den Wänden zu wiederholen, da man so schneller den Niederschlag von den Wänden in das Wägegefäß bringt. Es genügt dann, noch mit Alkohol nachzuwaschen, um die letzten Spuren des Niederschlages zu beseitigen. Beim Bariumsulfat wurde nach dem Glühen nochmals gewaschen. Die Gefäße müssen vor der Verwendung sauber und gut mit Chromschwefelsäure gereinigt werden, da sonst der Niederschlag weitgehend an den Wänden haftet.

Bei dem verwendeten Apparat war das Fassungsvolumen 10 bis 12 ccm, kann aber je nach der Größe der vorhandenen Metallzentrifugenhülse auch größer oder kleiner sein. Auch Mikro-*Gooch*-Tiegel aus Porzellan können verwendet werden.

Schon die ersten Versuche mit reinstem Kupfersulfat ergaben ziemlich zufriedenstellende Resultate, sowohl in Halbmikro- als auch in Mikroausführung.

16,23 mg $CuSO_4$	15,16 mg $BaSO_4$	38,43% SO_4
10,27 „ „	9,41 „ „	38,56% „
3,37 „ „	3,171 „ „	38,67% „

[1] *A. A. Benedetti-Pichler*: Mikrochemie **15**, 285 (1934).

[2] *W. E. Eskew* und *F. C. Vilbrandt*: Ind. engin. Chem., Analyt. Ed. **2**, 181 (1930).

[3] *F. Pregl (H. Roth)*: l. c., S. 145.

Der errechnete Wert für kristallisiertes Kupfersulfat ist 38,47% SO_4. Demnach bewegt sich die Abweichung des experimentellen Ergebnisses von dem erwarteten Resultat in Grenzen, welche beweisen, daß die Differenzen nicht auf die Methode der Isolierung zurückgehen. Nach einiger Übung gelingt die Bestimmung rasch und erfordert wenig Aufsicht, so daß beim Vorhandensein mehrerer Apparate Serienanalysen durchgeführt werden können.

Ob der Apparat allen berechtigten Ansprüchen genügt und inwieweit er eventuell noch verbessert werden könnte, wird sich aber naturgemäß erst nach längerem Gebrauch zeigen.

Zusammenfassung.

Eine Zentrifugenvorrichtung für die Zwecke der quantitativen Analyse wird beschrieben, die das Überführen der Niederschläge in das gewogene Gefäß erleichtern soll.

Der Apparat, der aus Fällungsröhrchen, Tiegelchen und Auffangröhrchen besteht, bildet, mit einem Ständer verbunden, ein Stück.

Die genauere Konstruktion ist aus einigen Abbildungen ersichtlich.

Summary.

A centrifuge set-up adapted to quantitative analysis is described, by the use of which precipitates can be transferred into the weighed vessel more easily.

The apparatus consists of a precipitation tube, a small crucible and a recipient tube; it forms one piece, after being assembled with a stand.

Details of construction may be seen from several drawings.

Résumé.

L'auteur décrit un apparail centrifuge pour l'analyse quantitative, facilitant le passage des précipités dans un vase pesé.

L'appareil, qui se compose de petits tubes de précipitation, de petits creusets et de petits tubes récepteurs est d'une pièce avec le support.

On peut voir la construction précise de cet appareil par plusieurs représentations.

Aus dem Chemischen Institut der Universität Oslo, Abteilung für anorganische Chemie. Vorstand: Prof. Dr. *Ellen Gleditsch*.

Untersuchungen über Radium- und Bariumfällungen unter Anwendung von Thorium X als Indikator.

Von

Ernst Föyn, Ellen Gleditsch und Sonja Hanneborg.

(Eingegangen am 8. April 1938.)

Im Zusammenhang mit Arbeiten über Fällung von Radium- und Bariumchlorid in sulfathaltigen Lösungen, besonders in Meerwässern, konnten wir beobachten, daß sowohl die Konzentration an Bariumchlorid sowie Sulfationen als auch der Zusatz von Fremdionen einen großen Einfluß auf die „Effektivität" der Fällungen ausüben. Wir dachten deshalb, daß es von Interesse wäre, den Fällungsmechanismus selbst näher zu untersuchen.

Für diese Untersuchungen war zunächst die Ausarbeitung einer Methode erforderlich, die es gestattet, während der Fällung genau gleichzeitig die Mengen von Radium zu bestimmen, die sich einerseits in der Lösung, anderseits im Niederschlag befinden. Für Radium selbst führt diese Methode natürlich zu großen Schwierigkeiten, doch gelingt ihre Durchführung bei Verwendung eines Radiumisotops, nämlich von „Thorium X". Man kann Th X leicht durch seine Emanationsabgabe nachweisen, die natürlich sehr viel größer ist, wenn sich Th X in Lösungen befindet, als wenn es in Form eines ungelösten Sulfats auftritt. Demnach muß die Emanationsabgabe abnehmen, wenn Th X mit Bariumchlorid in einer sulfathaltigen Lösung niedergeschlagen wird.

Da Thoriumemanation (Thoron) eine sehr kurze Zerfallsperiode hat, kann man durch wiederholte Messungen ein Bild des Reaktionsprozesses bekommen. Die Bestimmung von Th X wird gewöhnlich so durchgeführt, daß man einen Luftstrom durch die Thoriumlösung quirlen läßt, der dann, mit Emanation angereichert, in ein Elektroskop eingeführt wird, worin der Ionisationsstrom gemessen werden kann.

Da diese Methode für unsere Versuche nicht sehr befriedigend war, konstruierten wir einen neuen Apparat, der vielleicht auch für Thoriumbestimmungen in Quellwässern gute Verwendung finden kann. Die

Apparatur bestand im wesentlichen aus einem Fontaktometer nach *H. Mache* und *St. Meyer*. Als Ionisationskammer diente ein Kupferbehälter von 14 l Fassungsvermögen, der mit einem abnehmbaren Deckel versehen war. Dieser Deckel hatte drei Durchbohrungen: eine für die Elektrode des Elektroskops, eine zweite für die Einführung der zu messenden Lösungen und eine dritte für die Achse eines Propellers, der durch einen elektrischen Motor angetrieben wurde.

Die thoriumhaltige Lösung wurde in die Ionisationskammer gebracht und hierauf der Propeller in Betrieb gesetzt, so daß die Emanation ausgetrieben wurde, deren Menge sich durch den in der Kammer gemessenen Ionisationsstrom direkt bestimmen läßt. Die Rotationsgeschwindigkeit des Propellers muß konstant gehalten und so gering bemessen werden, daß ein Verspritzen der Lösung nicht eintreten kann. Wie Vorversuche ergaben, erhält man für Proben derselben Lösung von Th X immer genau den gleichen Wert des Ionisationsstromes, wenn der Motor, der den Propeller antreibt, auf gleiche Tourenzahl eingestellt wird.

Die folgenden Versuche wurden nun immer in der gleichen Weise durchgeführt:

1 ml Radiothorlösung im Gleichgewicht mit Th X wurde mit Wasser auf 1 l verdünnt; diese Lösung wurde dann in die Ionisationskammer gebracht und ihr Emaniervermögen durch Messung des entsprechenden Ionisationsstromes bestimmt. Weiters wurden dann der Radiothorlösung 2 ml Kaliumsulfatlösung zugesetzt und abermals der Ionisationsstrom gemessen, der sich als unverändert erwies; daraus ist ersichtlich, daß durch Zugabe der Kaliumsulfatlösung das Löslichkeitsprodukt nicht überschritten wurde. Hierauf wurden 2 ml einer 0,2 m-Bariumchloridlösung zugesetzt; die danach durchgeführte Ionisationsmessung ergab eine Abnahme des Ionisationsstromes. Im Anschluß daran wurden nun so lange immer wieder Messungen durchgeführt, bis der Ionisationsstrom neuerlich einen konstanten Wert aufwies. Hierbei wurde eine Korrektion für das Absterben der Emanation nicht angebracht, da eine solche die erhaltenen Resultate nur unwesentlich beeinflussen hätte können.

Die Resultate sind in Kurve I der Abb. 1 wiedergegeben.[1] Kurve II dieser Abbildung bezieht sich auf einen Versuch, bei welchem größere Konzentrationen verwendet wurden, und zwar wurden zuerst 4 ml Kaliumsulfatlösung und dann weiter 4 ml Bariumchloridlösung zugesetzt. Man sieht, daß bei diesen größeren Konzentrationen der Prozeß viel schneller abläuft, daß man aber auch hier schließlich zu einem konstanten Wert gelangt, der der gleiche wie bei dem früher beschriebenen Versuch ist. Daß man bei all den Versuchen nicht einen Nullwert für die

[1] Die in dieser sowie in allen folgenden Kurven eingetragenen Punkte sind Mittelwerte aus einer größeren Serie von Meßwerten.

Emanationsabgabe erreicht, hängt damit zusammen, daß auch vom Sulfatniederschlag eine gewisse Menge Thoron abgegeben wird. Wurde der Niederschlag von der Flüssigkeit abfiltriert, so erhielt man tatsächlich aus der Lösung allein keine Emanationsabgabe mehr; der Ionisationsstrom war auf Null gesunken.

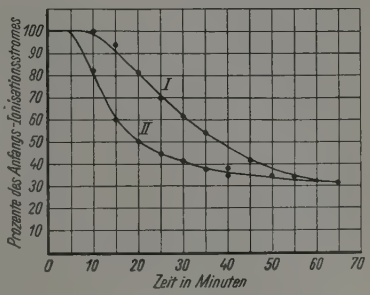


Abb. 1.

Wenn man nicht mit äquivalenten Mengen arbeitet, so ist für den Verlauf der Fällung die Reihenfolge, in der die Kaliumsulfat- bzw. Bariumchloridlösung zugesetzt wird, von großem Einfluß. Wenn man der Thoriumlösung erst Bariumchloridlösung und hierauf eine zur vollständigen Fällung nicht ausreichende Menge Sulfatlösung zusetzt, so wird natürlich nicht alles Th X gefällt. Trotzdem verlaufen die Versuche regelmäßig und sind reproduzierbar. Werden z. B. zuerst 8 ml Bariumchloridlösung und nachher 4 ml Kaliumsulfatlösung zugesetzt, so tritt bei Messung des Ionisationsstromes zwar ein schnellerer Abfall ein, doch bleibt in der Lösung ziemlich viel Th X zurück. Diese Versuche zeigen, daß prozentuell mehr Th X als Bariumsulfat gefällt wird.

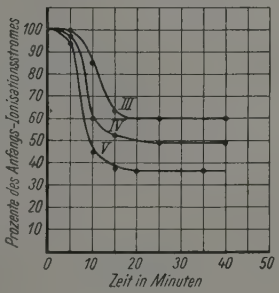


Abb. 2.

Wird nun im Gegensatz zu früher so gearbeitet, daß man zu einer sulfathaltigen Th X-Lösung zur Fällung nicht ausreichende Mengen Bariumchloridlösung zusetzt, so ist der Verlauf des Fällungsprozesses ganz unregelmäßig und ist nicht mehr reproduzierbar.

Man kann aus den beschriebenen Versuchen noch nicht mit völliger Sicherheit erkennen, ob sie wirklich ein Bild des Reaktionsverlaufes wiedergeben oder ob das Endresultat nicht durch Kristallisations- und Austauschprozesse gedeutet werden könnte. Es wäre z. B. denkbar, daß die Fällung momentan erfolgt, daß aber die Niederschläge so feinkristalline Struktur aufweisen, daß eine gute Emanationsabgabe möglich ist; dieser feinkristallinische Niederschlag könnte sich später in einen gröber kristallinen umwandeln, der eine weit geringere Emanationsabgabe zeigt.[1]

Obwohl wir nicht der Ansicht sind, daß diese Umwandlung so rasch erfolgen könnte, schien es uns doch angebracht, diese Annahme durch

[1] *J. M. Kolthoff*: Koninkl. Akad. Wetensch. Amsterdam, Proc. Vol. **40**, Nr. 1 (1937).

einen direkten Versuch zu widerlegen. Dieser wurde so wie der früher beschriebene Versuch Nr. 2 durchgeführt. Einer Th X-haltigen Lösung wurden zuerst 4 ml Bariumchloridlösung und dann 4 ml Kaliumsulfatlösung zugesetzt. Nach 2 bzw. 4 und 6 Minuten wurde dann weiter ein Überschuß von 4 ml Bariumchloridlösung hinzugefügt. Die Resultate sind in den Kurven III, IV und V wiedergegeben (Abb. 2).

Es ist klar, daß eine weiter zugesetzte Bariumchloridmenge keinen Einfluß auf das Endresultat haben könnte, wenn die Fällung momentan erfolgte. Nur wenn die Fällung eine gewisse Zeit in Anspruch nimmt, kann man eine Veränderung des Endresultates erwarten, was aber, wie die Kurven zeigen, tatsächlich der Fall ist.

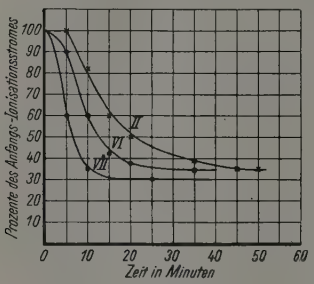


Abb. 3.

Schließlich wurde auch der Einfluß fremder Beimengungen auf die Fällungsgeschwindigkeit näher studiert. Einer Th X-haltigen Lösung wurden vor der Fällung einmal 4 ccm 0,2 m-Calciumchloridlösung und das nächstemal 4 ccm 0,2 m-Natriumchloridlösung zugefügt. Diesen Lösungen wurden dann äquivalente Mengen von Kaliumsulfat- und Bariumchloridlösungen zugesetzt. Der Reaktionsverlauf wird durch die Kurven VI und VII beschrieben (Abb. 3). In beiden Fällen ist ein schnellerer Verlauf des Prozesses zu erkennen, doch sind die Endergebnisse immer die gleichen. In derselben Abbildung ist auch Kurve II eingezeichnet, um den Vergleich zu erleichtern.

Zusammenfassung.

Zunächst wird im Zusammenhang mit Messungen der Fällungsgeschwindigkeit von Thorium X in sulfathaltigen Lösungen eine Methode beschrieben, die es gestattet, während der Fällung, und zwar ohne Störung des Fällungsvorganges, diejenigen Mengen von Thorium X zu bestimmen, die sich jeweils zu bestimmten Zeitpunkten noch in Lösung befinden; dabei konnte der Gehalt an Th X mit Hilfe einer Emanationsmethode genau ermittelt werden.

Die Versuchsergebnisse, die in Kurven wiedergegeben sind, lassen deutlich erkennen, daß die Fällung von Th X nicht momentan erfolgt, sondern eine gewisse Zeit beansprucht, die von der Konzentration der zugesetzten Sulfat- und Bariumchloridlösung sowie vom Zusatz anderer Fremdionen abhängig ist; es wird jedoch schließlich immer der gleiche Endzustand vollständiger Ausfällung erreicht, wenn mit äquivalenten Mengen gearbeitet wird.

Die Annahme, daß die Fällung momentan erfolgt, daß aber das Fällungsprodukt sich im Laufe der Zeit von einem feinkristallinischen Zustand mit großer Emanierfähigkeit in einen grobkristallinen mit geringer Emanationsabgabe umwandelt, konnte durch besondere Experimente widerlegt werden.

Schließlich wird noch eine Apparatur zur Messung des Thorongehalts angegeben, die auch für Untersuchungen des Thoriumgehalts von Quellwässern Anwendung finden kann.

Summary.

A method has been worked out which makes it possible to determine the rate of precipitation of thorium X in solutions containing sulphate ion. The amount of thorium X is determined rapidly and accurately by the thorium emanation—thoron—evolved under fixed conditions. Determinations have been made every 5 minute during the time following precipitation, and the results are given graphically.

They bring forward, very clearly, that the precipitation of thorium X requires a certain length of time, depending on the concentration of the sulphate and barium-chloride solutions used and on the presence of other ions. However, if equivalent quantities of barium- and sulphate ions are used, the same final result is always reached.

It might have been supposed that the precipitation takes place instantaneously but that in course of time, the precipitate undergoes changes through recrystallisations and that the emanating power changes accordingly. That hypothesis, however, could be disproved by special experiments.

At last an apparatus for measuring the thoron content is given which can also be applied for investigations of the thorium content of source waters.

Résumé.

Les auteurs décrivent une méthode qui leur a permis de déterminer la vitesse de précipitation du thorium X en solutions contenant de l'ion sulfurique. Le thorium X est dosé par son émanation — le thoron — sous des conditions fixées, et les dosages peuvent se faire à intervalles régulières pendant le temps que demande la précipitation.

Les résultats montrent que la précipitation du thorium X ne se fait point à l'instant, mais demande un certain temps, dépendant de la concentration des solutions de sulfate et de chlorure de baryum ajoutées et aussi de la présence d'ions étrangers.

Les auteurs réfutent par leurs expériences la théorie que la précipitation se fait momentanément et que le précipité change peu à peu son état cristallin et par cela même, sa faculté de dégager l'émanation.

Enfin les auteurs décrivent un appareil pour les dosages de thoron, qui pourra servir de même pour déterminer la teneur en thorium dans les eaux vives.

Aus dem Institut für analytische Chemie der naturwissenschaftlichen Fakultät der Masaryk-Universität Brünn. Vorstand: Prof. Dr. *J. V. Dubský*.

Zur Aufklärung der Makro- und Mikroreaktion des Eisens mit Thioglykolsäure.

Von

J. V. Dubský und V. Šindelář.

(Eingegangen am 14. April 1938.)

Der Farbreaktion des Eisens mit Thioglykolsäure zur kolorimetrischen Bestimmung von Spuren Eisen in biologischem Material wird mehr und mehr Aufmerksamkeit geschenkt. *R. Andreasch*,[1] der Entdecker der Reaktion, schrieb sie den Ferriionen zu, hingegen werden in letzter Zeit seit dem Erscheinen der Arbeit von *E. Lyons*[2] die Ferroionen als Ursache der Farbreaktion in Betracht gezogen. *K. Heller*[3] sagt in seinem Sammelreferat:[4] „Die Anwendung der Thioglykolsäure hat den Vorteil, daß die Reduktion zu Ferrosalzen und deren Nachweis durch das gleiche Reagens erfolgt."

Andreasch[1] führte die Reaktion so aus, daß er zur freien Thioglykolsäure oder zu der angesäuerten Lösung des Salzes einen Tropfen einer sehr verdünnten wäßrigen Lösung von Ferrichlorid zusetzte (etwa 0,1% Fe, d. h. ungefähr 0,5 mg). Die entstehende indigoblaue Färbung (I) verschwindet sehr schnell. Bei Zugabe von einigen Tropfen Ammoniak zwecks Alkalisierung tritt dunkelrote bis violette Färbung auf (II), die beim Schütteln mit Luft noch intensiver wird. Bei Zugabe von zuviel Ferrichlorid und Übersättigung mit Ammoniak wird ohne Farbänderung Ferrihydroxyd ausgefällt (III).

Nach einigem Stehen verschwindet die Färbung beinahe ganz, kehrt aber beim Schütteln an der Luft wieder zurück. Dies kann man öfters wiederholen, bis sich nach einiger Zeit Ferrihydroxyd in Flocken ab-

---

[1] *R. Andreasch*: Ber. Dtsch. chem. Ges. **12**, 1391 (1879).

[2] *E. Lyons*: Journ. Amer. chem. Soc. **49**, 1916 (1927); vgl. Chem. Ztrbl. **1927** II, 1871.

[3] *K. Heller*: Mikrochemie **12**, 337 (1933).

[4] Vgl. auch *Z. Stary*: Mikrochemie **12**, 367, 371 (1933), bzw. *O. Harburg*: Biochem. Ztschr. **187**, 255 (1927).

scheidet und die Lösung zersetzt zu sein scheint. Nach *Andreasch* bildet sich nach Zugabe von $Fe^{\cdots}$-Ion und Ammoniak (II) die rote Verbindung Fe (III) $(SCH_2COONH_4)_3$ und durch Oxydation an der Luft wird ein Teil der Säure unter gleichzeitiger Bildung des farblosen Ferrosalzes oxydiert, das seinerseits unter Aufnahme des Sauerstoffs sich wieder zum farbigen Ferrisalz oxydiert. Die Reaktion ermöglicht einen außerordentlich empfindlichen Nachweis von Eisen. Auch die Lösung des neutralen Bariumsalzes zeigt mit einem Tropfen Ammoniak (ein größerer Überschuß verhindert die Reaktion) und verdünnter $FeCl_3$-Lösung (0,005 mg Fe in 1 ccm) eine deutliche rote Färbung. Thiodiglykolsäure $S(CH_2CO_2H)_2$ weist mit $FeCl_3$ keine Farbreaktion auf.

P. Claesson[1] konnte zeigen, daß die Thioglykolsäure sowohl durch Jod, Kupfersalze, sowie auch an der Luft durch Ferrisalze zur Dithioglykolsäure $HOOC \cdot CH_2—S—S—CH_2 \cdot COOH$ oxydiert wird, welche ebenfalls mit Ferrisalzen keine Färbung liefert.

Auch *P. Claesson* nimmt die Bildung einer Ferrithioglykolsäure $Fe(SCH_2CO_2H)_3$ an, denn ein kleiner Zusatz von Eisenchlorid beschleunigt bedeutend die Oxydation der Thioglykolsäure durch Luft, was durch eine wechselnde Oxydation und Reduktion bedingt ist. Zugleich verweist *Claesson* auf die dunkelrotbraune Färbung der Sulfhydrate mit Ferrisalzen, die nach einiger Zeit infolge Reduktion verschwindet (Sulfide und Bisulfide reagieren nicht).

Auch *J. Ginsburg* und *S. Bondzynski*[2] nehmen in der grünen Übergangsfärbung der Thioglykolsäure mit $FeCl_3$ (1 : 16) die Ferrithioglykolsäure $Fe(SCH_2CO_2H)_3$ an. Die Färbung verschwindet mit überschüssigem $FeCl_3$ unter Bildung von Dithioglykolsäure. Beim Übersättigen mit Ammoniak entsteht $Fe(OH)_2$, das sich bald grün verfärbt und hierauf unter Bildung von Ferrihydroxyd braun wird. Nach Abfiltrieren desselben konnte aus dem Filtrat die Dithioglykolsäure isoliert werden.

E. Lyons[3] zeigte, daß man mit Thioglykolsäure noch in einer Verdünnung von 1 : 10000000 Eisen nachweisen kann, und zwar soll die Reaktion von der Oxydationsstufe des Eisens unabhängig sein. Ferrisalz wird durch Thioglykolsäure zur Ferroform reduziert. Die rote bzw. Purpurfärbung ist der Reaktion zwischen Ferroeisen und Thioglykolsäure zuzuschreiben.

Wenn Ferrieisen in größerer Konzentration als 1 : 100000 anwesend ist, so gibt die Zugabe von Thioglykolsäure eine vorübergehende Blaufärbung. Bei geringer Konzentration wurde diese nur für einen Augenblick beobachtet. Dies entspricht der Bildung von $Fe(SCH_2CO_2H)_3$, das zum

---

[1] *P. Claesson*: Ber. Dtsch. chem. Ges. **14**, 409, 412 (1881).
[2] *J. Ginsburg* und *S. Bondzynski*: Ber. Dtsch. chem. Ges. **19**, 116 (1886).
[3] *E. Lyons*: Siehe Fußnote 2, S. 258.

farblosen Ferrothioglykolat reduziert wird, einem Komplex, der in alkoholischer Lösung intensiv gefärbte Ferrothioglykolationen $Fe(SCH_2CO_2)_2^{--}$ gibt.

Nach *Lyons* ist der Reaktionsverlauf der folgende:

$$(1)\quad 2\,Fe^{\cdots} + 2\,HS{-}CH_2{-}CO_2H \longrightarrow 2\,Fe^{\cdot\cdot} + \begin{matrix} S{-}CH_2{-}CO_2H \\ | \\ S{-}CH_2{-}CO_2H \end{matrix}$$

$$(2)\quad Fe^{\cdot\cdot} + 2\,(SCH_2CO_2H)^- \longrightarrow \underset{\text{farblos}}{Fe\,(SCH_2CO_2H)_2} \longrightarrow \underset{\text{gefärbt}}{Fe\,(SCH_2CO_2)_2^{--}}$$

Reaktion 1 verläuft nur bei Anwesenheit von $Fe^{\cdots}$; sobald es reduziert wird, beginnt die Reaktion 2. Die Farbe tritt auch bei Zugabe von Alkali auf.

R. K. Cannan und *G. M. Richardson*[1] zeigten, daß sowohl Fe(II) als auch Fe(III) Komplexsalze mit Thioglykolsäure bilden, aber nur die des Fe(III) gefärbt sind. Bei Abwesenheit von O_2 bleicht die rote Farbe des Ferrikomplexes allmählich aus, indem das Salz auf Kosten der Thioglykolsäure, die zur Disulfidsäure oxydiert wird, durch Autoreduktion in den Fe(II)-Komplex übergeht. Die Reaktion hängt von der Konzentration der Thioglykolsäure, von der Konzentration des Eisens und vom p_H ab und diese Vorgänge spielen sich im p_H-Bereich 6 bis 11 ab. Bei $p_H = 7$ erfolgt die Entfärbung des $Fe^{\cdots}$ fast momentan, in der Gegend von $p_H = 10$ aber langsam. Oberhalb $p_H = 10{,}5$ bis 11 erfolgt Abscheidung von $Fe(OH)_3$.

Die Disulfidsäure gibt mit Eisen keine Komplexverbindung und vermag auch den Ferrokomplex der Thioglykolsäure nicht zum Ferrikomplex zu oxydieren. Eine Isolierung der Komplexverbindung gelang nicht. Die Reaktion führt bei höheren p_H-Werten scheinbar zu einem Gleichgewicht:

$$2\ \text{Ferrithiogl.} + RSH \rightleftharpoons 2\ \text{Ferrothiogl.} + R{-}S{-}S{-}R$$

Bei passender Versuchsanordnung gelang uns die Überführung des Komplexes $Fe(III)\,(SCH_2COONH_4)_3$ in das entsprechende komplexe Ferrisalz

$$Fe{-}(S{-}CH_2{-}\underset{\displaystyle O}{\overset{\displaystyle \|}{C}}{-}O)_3\,Fe(H_2O)_6,$$

einen hell ockerbraunen Niederschlag, der bisher stets als Ferrihydroxyd angesprochen wurde.

Ferner gelang es uns bei sorgfältigem Abschluß von Luft und vorsichtigem Arbeiten in Wasserstoffatmosphäre, zu zeigen, daß Ferro-

[1] *R. K. Cannan* und *G. M. Richardson*: Biochemical Journ. **23**, 1242 (1929); vgl. Chem. Ztrbl. **1930** I, 3024; vgl. auch *H. W. Swank* und *M. G. Mellon*: Ind. engin. Chem. **30**, Anal. Edit. **10**, 7 (1938).

ionen mit Thioglykolsäure auch bei Zugabe von Ammoniak nicht reagieren. Sobald aber nur etwas Luft zugelassen wurde, trat intensive rotviolette Färbung auf.

Unter den erwähnten Arbeitsbedingungen wurde

für die Eisenbestimmung die Erfassungsgrenze 0,13 γ
die Grenzkonzentration 1 : 300000,
für die Thioglykolsäure die Erfassungsgrenze 60 γ
die Grenzkonzentration 1 : 500 festgestellt.

Experimenteller Teil.

1. Ferri-ferrisalz der Thioglykolsäure $Fe(SCH_2CO_2)_3\ Fe \cdot 6\ aq.$

Zu 1 ccm der Thioglykolsäure wurden 10 Tropfen einer gesättigten alkoholischen Lösung von Ferrichlorid zugefügt. Beim Vermischen wurde vorübergehend blaugrüne Färbung wahrgenommen, die sich bei Zugabe von 20 Tropfen konz. Ammoniak dunkelviolettrot verfärbte. Jetzt wurde die alkoholische Ferrichloridlösung im Überschuß zugegeben und der entstehende hellockerbraune Niederschlag abgesaugt und solange mit Alkohol gewaschen, bis im Filtrat die Reaktion auf Cl′ verschwand. Der Niederschlag wurde auf poröser Tonplatte getrocknet.

Die Analyse ergab:

0,2472 g Subst.: 0,0799 g Fe_2O_3
10,681 mg „ : 15,843 mg $BaSO_4$
33,2 mg „ : 0,0041 g H_2O (bei 100°).

Etwa die Hälfte des Wassers kann man demnach bei 100° verdrängen (s. unten).

$$S : Fe = 3 : 2$$

Unter Zugrundelegung der Formel $Fe_2S_3C_6H_6O_6 + 6\ H_2O$ ergibt sich:

Berechnet: 22,79% Fe, 19,63% S, 22,06% H_2O
Gefunden: 22,61% Fe, 20,37% S, 12,35% H_2O.

2. Beweis, daß die Ferroverbindungen der Thioglykolsäure $Fe(II)(SCH_2CO_2H)_2$ *und* $Fe(II)(SCH_2CO_2NH_4)_2$ *farblos sind.*

In einem breiten Probegläschen mit doppeltdurchbohrtem Kautschukstopfen wurde die Luft vollständig durch Wasserstoff verdrängt. Im Probeglas befindet sich Wasser, durch welches eine Zeitlang Wasserstoff geleitet wurde. Durch das zweite Glasrohr im Kautschukstopfen werden unter stetem Durchströmen des Wasserstoffs 3 Tropfen der Thioglykolsäure eingeführt. Bei Zugabe eines Kriställchens *Mohr*schen Salzes verbleibt die Flüssigkeit farblos. Auch bei Zugabe von 10 bis 20 Tropfen konz. Ammoniak durch das Glasrohr bleibt das Gemisch, solange es unter

Wasserstoffdruck steht, völlig farblos. Erst bei vorsichtigem Lüften des Kautschukstopfens wird das Ferrosalz zu Ferrisalz oxydiert und das entstehende Ferrisalz an der Oberfläche der Flüssigkeit färbt sich hellviolettrot, beim Durchschütteln noch intensiver, bis die Farbe fast dunkelviolettrot wird. Dadurch wurde einwandfrei bewiesen, daß nur $Fe^{\cdots}$-Ionen die Färbung verursachen.

Zusammenfassung.

Ferrosalze geben mit Thioglykolsäure bei Luftabschluß keine Farbreaktion, auch nicht in ammoniakalischer Lösung.

Ferrisalze verursachen zuerst eine blaue Färbung durch Bildung der Ferrithioglykolsäure $Fe(SCH_2CO_2H)_3$, in ammoniakalischer Lösung aber die violettrote Färbung des zugehörigen Ammoniumsalzes $Fe(SCH_2CO_2NH_4)_3$. Bei Zugabe von Ferrichlorid im Überschuß entsteht nicht Ferrihydroxyd, sondern das ockerbraune Aquosalz des Ferri-ferrithioglykolats. Die Empfindlichkeit der Färbung wurde für das Eisen und für die Thioglykolsäure bestimmt.

Summary.

Ferrous salts, not even in ammoniacal solution, give no colour reaction with thioglycolic acid if air is excluded. Ferric salts cause a blue colour first, by forming ferrithioglycolic acid $Fe(SCH_2CO_2H)_3$. In ammoniacal solution, however, there appears the violettish red colour of the respective ammonium salt $Fe(SCH_2CO_2NH_4)_3$. On adding an excess of ferric chloride one does not obtain ferric hydroxide but the ochre brown aquo salt of ferric ferrithioglycolate. The sensitivity of the colour is determined for both iron and thioglycolic acid.

Résumé.

L'air exempt, les sels ferreux ne donnent point de réaction colorante avec l'acide thioglycolique, même pas en solution ammoniacale.

Les sels ferriques donnent d'abord une coloration bleue par la formation de l'acide ferri-thioglycolique $Fe(SCH_2CO_2H)_3$, mais en solution ammoniacale ils donnent la coloration rouge-violette du sel d'ammonium $Fe(SCH_2CO_2NH_4)_3$. Si l'on ajoute du chlorure ferrique en excès, l'hydrate du sel ferrique de l'acide ferri-thioglycolique d'une couleur ocre brune est formé au lieu de l'hydrate ferrique. Les auteurs déterminèrent la sensibilité de la coloration pour le fer et pour l'acide thioglycolique.

Fortlaufende Literaturübersicht über Arbeiten mikrochemischen Inhaltes.[1]

I. Anorganische (präparative und analytische) Chemie.[2]

Benedetti-Pichler, A. A. und *Bryant, J. T.* (Chem. Laboratories of Washington Square Coll., New York Univ., New York): Qualitative separations on a micro scale. Analysis of the alkali group. Ind. engin. Chem., Analyt. Ed. **10**, 107 (1938).

Benedetti-Pichler, A. A. und *Rachele, J. R.* (ebenda): Qualitative separations on a micro scale. V. Separation and detection of osmium and ruthenium. Mikrochemie **24**, 16 (1938).

Birnbaum, N. und *Walden, G. H.* (Dept. of Chemistry, Columbia Univ., New York, N. Y.): The coprecipitation of ammonium silicomolybdate and ammonium phosphomolybdate. An improved volumetric method for the determination of phosphorus. Journ. Amer. chem. Soc. **60**, 66 (1938).

Davidov, O. L. (keine Ortsangabe): Photoelektrische Methode zur Nitritbestimmung. Ber. Akad. Wiss. Ukr. SSR.; Ber. Inst. physikal. Chem. (ukr.) **8**, 145 (1938).

Fritz, H. (Mikrochem. Lab. Ziviling. Dr. *H. Fritz*, Wien IV): Experimentelle Beiträge zum Ausbau der Elektro-Tüpfelanalyse. 4. Mitteilung. Mikrochemie **24**, 22 (1938).

Jolibois, P. (Übersichtsvortrag in der Dtsch. chem. Ges., Berlin): Funkenelektrolyse. Ber. Dtsch. chem. Ges. **71**, 73 (1938). Enthält unter anderem analytische Angaben.

Lindsey, A. J. (The Sir John Cass Technical Inst., Jewry Street, London E. C. 3): The micro-electrolytic determination of copper in the presence of other metals by controlled potential. Analyst **62**, 159 (1938).

[1] 1. März 1938 bis 1. Mai 1938. — Hier werden nur Arbeiten angeführt, die methodisch Neues bieten oder alte Arbeitsweisen in neuer Anordnung enthalten. Arbeiten, die wohl neue Ergebnisse irgendwelcher Art bringen, aber chemisch nichts Neues bieten, werden nicht berücksichtigt.

[2] *Durchgesehen werden*: Mikrochemie; Monatsh. Chem.; Ber. Dtsch. Chem. Ges.; Ztschr. anorgan. allg. Chem.; Ztschr. analyt. Chem.; Ztschr. physikal. Chem.; Angew. Chem.; Chem.-Ztg.; Österr. Chemiker-Ztg.; Journ. prakt. Chem.; Naturwiss.; Helv. chim. Acta; Rec. Trav. chim. Pays-Bas; Chem. Weekbl.; Journ. Russ. phys.-chem. Ges. (russ.); Journ. chem. Soc. London; Nature; Compt. rend. Acad. Sciences; Bull. Soc. chim. France; Gazz. chim. Ital.; Journ. Amer. chem. Soc.; Ind. engin. Chem., Analyt. Ed.; Journ. Indian chem. Soc.; Bull. chem. Soc. Japan; Journ. Soc. chem. Ind. Japan; Tôhoku Sci. Rep., I. Ser.; Inst. Phys. Chem. Research Japan, Sci. Papers.

Mehlig, J. P. (Oregon State Coll., Corvallis, Ore.): Colorimetric determination of iron with salicylic acid. Ind engin. Chem., Analyt. Ed. **10**, 136 (1938).

Percs, E. (Budapesti Székesfővárosi Közkórházi Gyógyáruraktár laboratoriumából): Nitrit meghatározása nitrát mellett. Magyar Gyógyszerésztudományi Társaság Értesitője **14**, 30 (1938).

Schoental, R. (Inst. f. gerichtl. Med. d. Univ. Krakau): Eine neue spezifische Mikro-Reaktion auf Palladium. Mikrochemie **24**, 20 (1938).

Šemjakin, F. M. und *Belokon, A. N.* (Inst. of General a. Inorganic Chemistry, Academy of Sci. of the USSR.): On new color reactions between tetravalent cerium and salts of aromatic acids. Compt. rend. (Doklady) Acad. Sci. URSS. **18**, 275 (1938).

Šemjakin, F. M. und *Belokon, A. N.* (ebenda): New drop reactions of vanadates and molybdates with α-nitroso-β-naphthol. Compt. rend. (Doklady) Acad. Sci. URSS. **18**, 277 (1938).

Swank, H. W. und *Mellon, M. G.* (Purdue Univ., Lafayette, Ind.): The determination of iron with mercaptoacetic acid. Ind. engin. Chem., Analyt. Ed. **10**, 7 (1938).

Szebellédy, L. und *Jónás, J.* (Analyt. u. Pharmaz.-chem. Inst. d. Kgl. Ung. Pázmány-Péter-Univ., Budapest): Der Nachweis von Nitraten mit Rubrophen. Pharmaz. Zentralhalle **79**, 51 (1938).

Thiel, A., Heinrich, H. und *van Hengel, E.* (Physik.-chem. Inst. d. Univ. Marburg): Weitere Erfahrungen mit der Absolutcolorimetrie des Eisens. Ber. Dtsch. chem. Ges. **71**, 756 (1938).

Yanowski, L. K. und *Hynes, W. A.* (Analyt. Laboratories of Fordham Univ., New York): Studies on the application of salts of complex cations to the microscopic detection of anions. IV. Chloropentamminocobaltic chloride (purpureocobaltic chloride). Mikrochemie **24**, 1 (1938).

II. Physikalisch-chemische und physikalische Methoden.[1]

Audubert, R. (Lab. f. physik. Chem. u. Elektrochem. d. Univ. Paris): Die Emission von Strahlung bei chemischen Reaktionen. Angew. Chem. **51**, 153 (1938). Übersicht.

Bandow, F. (Med. Klinik d. Univ. Freiburg i. Br.): Zur Frage der quantitativen Fluorimetrie. Biochem. Ztschr. **295**, 154 (1938).

Carpéni, G. (vorgelegt von *Urbain, G.*): Électrométrie et spectrographie U. V. de l'acide rhodizonique. Remarques sur son titre à l'iode. Compt. rend. Acad. Sciences **206**, 432 (1938).

Dawson, Ch. R. und *Nelson, J. M.* (Dept. of Chem., Columbia Univ., New York): On the mechanism of the catechol-tyrosinase reaction. Journ. Amer. chem. Soc. **60**, 250 (1938).

Garrett, A. B. und *Hirschler, A. E.* (Dept. of Chemistry, The Ohio State Univ., Columbus, O.): The solubilities of red and yellow mercuric oxides in water, in alkali, and in alkaline salt solutions. The acid and basic dissociation constants of mercuric hydroxide. Journ. Amer. chem. Soc. **60**, 299 (1938).

[1] *Durchgesehen werden*: Die unter I angeführten Zeitschriften.

Ghosh, J. C. (Vortrag, Indian Chem. Soc., Calcutta): The physico-chemical properties of ascorbic acid. Journ. Indian chem. Soc. **15**, 1 (1938). Einige der Versuche wurden mit Mikromengen ausgeführt.

Kolthoff, I. M. (Chem. Lehrabteilung des Technol. Inst. d. Univ. Minnesota, Minneapolis, USA.): Das Altern von frischen Fällungen bei Anwesenheit eines flüssigen Mediums. Österr. Chemiker-Ztg. **41**, 113 (1938).

Lauffer, M. A. und *Stanley, W. M.* (Dept. of Animal a. Plant Pathol. of the Rockefeller Inst. f. Med. Research, Princeton, N. J.): Stream double refraction of virus proteins. Journ. biol. Chemistry **123**, 507 (1938).

Michaelis, L. und *Schwarzenbach, G.* (Laboratories of The Rockefeller Inst. f. Med. Research, New York): The intermediate forms of oxidation-reduction of the flavins. Journ. biol. Chemistry **123**, 527 (1938).

Smith, E. A. und *Taylor, H. S.* (Frick Chemical Laboratory, Princeton Univ., Princeton, N. J.): The interaction of hydrogen and deuterium on zinc oxide. Journ. Amer. chem. Soc. **60**, 362 (1938). Enthält eine modifizierte Mikro-Wärmeleitungsmethode nach *Farkas*.

III. Organische Chemie (präparativ und analytisch).[1]

Dieterle, H. und *Beyl, H.* (Pharmaz. Inst. d. Joh. Wolfg. Goethe-Univ., Frankfurt a. M.): Die Inhaltsstoffe der Rinde von *Lunasia costulata* (*Miq.*). Arch. Pharmaz. **275**, 174 (1938). Mikrokristallbilder.

Elek, A. (Rockefeller Inst. for Medic. Research, New York, N. Y.): Microdetermination of carbon and hydrogen. Ind. engin. Chem., Analyt. Ed. **10**, 51 (1938).

Ercoli, A. (Istituto Sieroterapico Milanese, Mailand): Enzymatische Umwandlung des Δ^4-Testosterons in Aetiocholan-ol-(17)-on-(3) nach Epi-ätiocholan-diol-(3.17) durch einen Hengsthodenextrakt. Ber. Dtsch. chem. Ges. **71**, 650 (1938). Mikro- bis halbmikropräparativ.

Fauré-Frémiet, E. und *Baudouy, C.* Mlle. (Collège de France, Lab. maritime de Concarneau et Inst. de Biol. physico-chimique): Sur l'ovokératine des Sélaciens. Bull. Soc. Chim. Biol. **20**, 14 (1938). Enthält eine modifizierte Halbmikroschwefelbestimmung.

Fischer, H., Lautsch, W. und *Kuo-Hao Lin* (Org.-chem. Inst. d. Techn. Hochsch. München): Teilsynthesen von Dehydro-bacterio-phorbid und Dehydro-bacterio-chlorin. Liebigs Ann. **534**, 1 (1938). Mikrokristallbilder. Zum Teil halbmikro- bis mikropräparativ.

Foulke, D. G. und *Schneider, F.* (School of Chemistry, Rutgers Univ., New Brunswick, N. J.; Dept. of Chem., Trinity Coll., Hartford, Conn.): The microtechnic of organic qualitative analysis. Ind. engin. Chem., Analyt. Ed. **10**, 104 (1938).

---

[1] *Durchgesehen werden*: „Ann. Chem." und alle unter I angeführten Zeitschriften mit Ausnahme von „Ztschr. anorgan. allg. Chem.". Siehe auch unter IV, VI, VII.

Hayman, D. F. (Merck & Co., Inc., Rahway, N. J.): Drying and weighing hygroscopic substances in microanalysis. Ind. engin. Chem., Analyt. Ed. **10**, 55 (1938).

Heard, R. D. H. (Connaught Laboratories, Univ. of Toronto, Toronto, Ont., Canada; Dept. of Biochemistry, Dalhousie Univ., Halifax, Nova Scotia, Canada): A new ketone from the urine of pregnant mares. Journ. Amer. chem. Soc. **60**, 493 (1938). Halbmikropräparativ.

Kofler, L. und *Lindpaintner, E.* (Pharmakognost. Inst. d. Univ. Innsbruck): Mikroskopische Untersuchungen an polymorphen Substanzen. I. Benzil, 8-Oxychinolin und Benzidin. Mikrochemie **24**, 43 (1938).

Kuyper, A. C. (Biochemical Lab., State Univ. of Iowa, Iowa City; Lab. of Physiol. Chemistry, The Ohio State Univ., Columbus, O.): The quantitative precipitation of citric acid. Journ. biol. Chemistry **123**, 405 (1938).

Leckzyck, E. (Kais. Wilh.-Inst. f. Chem., Abt. *Heß*, Berlin-Dahlem): Zur Endgruppenfrage der Cellulose in Baumwollhaaren. (II. Mitteilung.) Ber. Dtsch. chem. Ges. **71**, 829 (1938). Zum Teil halbmikro- bis mikrochemisch.

Michaelis, L. und *Schwarzenbach, G.* (Laboratories of The Rockefeller Inst. f. Med. Research, New York): The intermediate forms of oxidation-reduction of the flavins. Journ. biol. Chemistry **123**, 527 (1938).

Philpot, J. St. L. und *Small, P. A.* (Dept. of Biochemistry, Oxford): The action of nitrous acid on p-cresol and tyrosine. Biochemical Journ. **32**, 534 (1938). Enthält eine kolorimetrische Methode.

Rosenthaler, L. (Bern): Nachweis von α-Naphthol in β-Naphthol. Pharmac. Acta Helv. **13**, 3 (1938).

Schmitt, R. B., S. J. und *Niederl, J. B.* (Depts. of Chemistry of Loyola Coll., Baltimore, Md. and of the Washington Square Coll., New York Univ., New York): A micro titrimetric dry combustion method for carbon. Mikrochemie **24**, 59 (1938).

Semerano, G. (Istit. di Chimica Fisica della R. Univ., Padova): La ricerca e il dosamento dell'acido fumarico in presenza degli acidi maleico, itaconico, citraconico, cis- e trans-aconitico. Mikrochemie **24**, 10 (1938).

Sternberg, H. (Wien): Die quantitative Bestimmung des Kohlenstoffes und Wasserstoffes. Mikrochemie **24**, 65 (1938). Übersicht.

Stevenson, S. G. und *Resuggan, J. C. L.* (Glaxo Laboratories Ltd., Greenford, Middlesex): A colorimetric test for the detection of parahydroxybenzoic acid in the presence of salicylic acid. Analyst **63**, 152 (1938).

Stoll, A. (Basel): Meldrøjens virksomme Indholdstoffer. (Vortrag.) Dansk Tidsskr. Farmaci **12**, 1 (1938). Mikrokristallbilder.

Strain, H. H. (Carnegie Institution of Washington, Div. of Plant Biol., Stanford Univ., Calif.): Eschscholtzxanthin: A new xanthophyll from the petals of the California poppy, *Eschscholtzia californica*. Journ. biol. Chemistry **123**, 425 (1938).

Tischer, J. (Inst. f. allg. u. analyt. Chem. d. Landw. Abt. der Prager Techn. Hochsch. in Tetschen-Liebwerd): Über die Carotinoide von *Haematococcus fluvialis*. II. (Carotine der Süßwasseralgen, V. Teil.)

Ztschr. physiol. Chem. **252**, 225 (1938). Chromatographie und darauffolgende Aufarbeitung, zum Teil von Mikromengen.

Vorländer, D. (bearbeitet mit *Wilke, R., Haberland, U., Thinius, K., Hempel, H.* und *Fischer, J.*) (Chem. Inst. d. Univ. Halle): Die Polymorphie der kristallin-flüssigen Aryliden-p-amino-zimtsäure-ester; ein Beitrag zur Kenntnis der Assoziations-Vorgänge. Ber. Dtsch. chem. Ges. **71**, 501 (1938). Enthält Mikrobeobachtungen.

IV. Biochemie (Mensch und Tier).[1]

Allara, E. (Istituto di Anat. umana della R. Università, Firenze): La distribuzione delle sostanze inorganiche in alcune varietà di tessuto connettivo studiata con il metodo della microincinerazione. Boll. Soc. ital. Biol. sper. **13**, 99 (1938).

Baïsset, A., Bugnard, L. und *Rogeon, J.* (Lab. de Physiol. de la Fac. de Méd. de Toulouse): Recherches sur la teneur du sang en acide lactique. Bull. Soc. Chim. Biol. **20**, 51 (1938).

Bandow, F. (Med. Klinik d. Univ. Freiburg i. Br.): Zur Frage der quantitativen Fluorimetrie. Biochem. Ztschr. **295**, 154 (1938).

Banga, I. und *Szent-Györgyi, A.* (Inst. f. med. Chemie d. Univ. Szeged): Über die Funktion des „Aktivators" und die Natur des Donators im Taubenbrustmuskel. Ztschr. physiol. Chem. **252**, 275 (1938).

Beerenblum, I. und *Chain, E.* (Sir William Dunn School of Pathology, Oxford): Studies on the colorimetric determination of phosphate. Biochemical Journ. **32**, 286 (1938).

Bezssonoff, N. und *Woloszyn, M.* Mme. (Clinique infantile de la Fac. de Médecine, Strasbourg): Sur l'existence d'une forme oxydée intermédiaire entre la vitamine C et l'acide déhydroascorbique. Bull. Soc. Chim. biol. **20**, 93 (1938).

Binet, L. und *Weller, G.* (keine Ortsangabe): Quelques addenda à notre méthode de microdosage du glutathion dans les tissus. Bull. Soc. Chim. biol. **20**, 123 (1938).

Booth, V. H. (Physiol. a. Biochemical Laboratories, Cambridge, England): The specifity of xanthin oxidase. Biochemical Journ. **32**, 494 (1938).

Borgström, St. (Med.-chem. Inst. d. Univ. Lund): Modifikation der Methode von *Denis* zur Magnesiumbestimmung im Serum. Skand. Arch. Physiol. **78**, 65 (1938).

Boyland, E. und *Boyland, Margaret E.* (Research Inst., Royal Cancer Hosp., London, S. W.): Studies in tissue metabolism. XI. The action of tumour slices and extracts on different carbohydrates. Biochemical Journ. **32**, 321 (1938).

Brock, N., Druckrey, H. und *Herken, H.* (Pharmakol. Inst. d. Univ. Berlin; Zool. Station [Aquarium] Neapel): Der Stoffwechsel des

[1] *Durchgesehen werden*: Mikrochemie; Ztschr. physiol. Chem.; Biochem. Ztschr.; Biochemical Journ.; Bull. Soc. Chim. biol.; Compt. rend Soc. Biologie; Journ. biol. Chemistry; Journ. Lab. clin. Med.; siehe auch unter V und sinngemäß unter I, III, VI, VII.

geschädigten Gewebes. II. Nach Untersuchungen am Seeigelei. Arch. exp. Pathol. Pharmakol. **188**, 437 (1938).

Chevallier, A., Choron, Y. und *Matheron, R.* (Lab. de physique de la Fac. de médecine, Marseille): Sur le dosage de la vitamine A dans le sang. Compt. rend. Soc. Biologie **127**, 541 (1938).

Cori, Gerty T., Colowick, S. P. und *Cori, C. F.* (Dept. of Pharmacol., Washington Univ. School of Med., St. Louis): The formation of glucose-1-phosphoric acid in extracts of mammalian tissues and of yeast. Journ. biol. Chemistry **123**, 375 (1938).

Cori, Gerty T., Colowick, S. P. und *Cori, C. F.* (ebenda): The action of nucleotides in the disruptive phosphorylation of glycogen. Journ. biol. Chemistry **123**, 381 (1938).

Czarnetzky, E. J., Morgan, Isabel M. und *Mudd, St.* (Dept. of Bacteriol., School of Med., Univ. of Pennsylvania, Philadelphia): A stable hemolysin-leucocidin and its crystalline derivative isolated from beta hemolytic streptococci. Journ. exp. Med. **67**, 643 (1938). Ein Mikrokristallbild.

Davenport, H. W., Fisher, R. B. und *Wilhelmi, A. E.* (Dept. of Biochemistry, Oxford:) The metabolism of creatine. IV. A: *Davenport, H. W.* und *Fisher, R. B.*: Improved determination of glycocyamine. B: *Fisher, R. B.* und *Wilhelmi, A. E.*: Improved determination of arginine. Biochemical Journ. **32**, 602 (1938).

Dewan, J. G. und *Green, D. E.* (Inst. of Biochemistry, Cambridge, Engl.): Coenzyme factor — a new oxidation catalyst. Biochemical Journ. **32**, 626 (1938).

Doering, H. (Univ.-Kinderklinik Freiburg i. Br.): Zur Frage des organisch gebundenen Broms im Blute. Biochem. Ztschr. **296**, 53 (1938).

Dowden, H. C. (National Inst. for Research in Dairying, Univ. of Reading): The determination of small amounts of dimethylalanine in biological fluids. Biochemical Journ. **32**, 455 (1938).

Druey, J. (Med. Klinik d. Univ. Bern): Nephelometrische Untersuchungen an Lebereiweiß. I. Biochem. Ztschr. **295**, 324 (1938).

Du Vigneaud, V., Irving, G. W. jun., *Dyer, Helen M.* und *Sealock, R. R.* (Dept. of Biochem., School of Med., George Washington Univ., Washington, D. C.): Electrophoresis of posterior pituitary gland preparations. Journ. biol. Chemistry **123**, 45 (1938).

Ellinger, P. (Lister Inst., London): Lyochromes in the kidney. With a note on the quantitative estimation of lyochromes. Biochemical Journ. **32**, 376 (1938).

Ellis, G. H. (Lab. of Animal Nutrition, Cornell Univ., Ithaca, N. Y.): The microdetermination of calcium. Ind. engin. Chem., Analyt. Ed. **10**, 112 (1938).

Euler, H. v. und *Hellström, H.* (Biochem. Inst. d. Univ. Stockholm): Zur Kenntnis der enzymatischen Wasserstoffüberträger im Muskel. 2. Mitteilung. Ztschr. physiol. Chem. **252**, 31 (1938).

Fenn, W. O., Cobb, Doris M., Manery, Jeanne F. und *Bloor, W. R.* (Depts. of Physiol. a. Biochem., School of Med. a. Dentistry, The Univ. of Rochester, Rochester, N. Y.): Electrolyte changes in cat muscle

during stimulation. Amer. Journ. Physiol. **121**, 595 (1938). Modifikationen der Kaliumbestimmung von *Shohl* und *Bennett* für Muskel.

Gaebler, O. H. und *De Forrest Abbott, L.* jun. (Dept. of Laboratories, Henry Ford Hosp., Detroit, Mich.): Isolation of creatinine from serum ultrafiltrates. Journ. biol. Chemistry **123**, 119 (1938).

Glick, D. (Carlsberg Lab., Copenhagen): Choline esterase and the theory of chemical mediation of nerve impulses. Journ. gen. Physiol. **21**, 431 (1938).

Herriott, R. M. (Laboratories of the Rockefeller Inst. for Med. Research, Princeton, N. J.): Isolation, crystallization, and properties of swine pepsinogen. Journ. gen. Physiol. **21**, 501 (1938). Ein Mikrokristallbild.

Hill, S. E. und *Osterhout, W. J. V.* (Laboratories of The Rockefeller Inst. for Med. Research; sonst keine Ortsangabe): Calculations of bioelectric potentials. II. The concentration potential of KCl in *Nitella*. Journ. gen. Physiol. **21**, 541 (1938).

Hummel, Frances C. (Children's Fund of Michigan, Detroit) und *Willard, H. H.* (Univ. of Michigan, Ann. Arbor, Mich.): Determination of iron in biological materials. The use of phenanthroline. Ind. engin. Chem., Analyt. Ed. **10**, 13 (1938).

Jordan, R. Ch. und *Pryde, J.* (Physiology Inst., Cardiff): Note on a quantitative skatole colour reaction for fructose. Biochemical Journ. **32**, 279 (1938).

Kendal, L. P. und *Stickland, L. H.* (Dept. of Experimental Pathol. a. Cancer Research, Univ. of Leeds): Studies in glycolysis II. The first stages of glycolysis in muscle extracts. Biochemical Journ. **32**, 572 (1938).

King, E. J. und *McGeorge, M.* (British Postgraduate Medical School, London): The biochemistry of silicic acid. V. The solution of silica and silicate dusts in body fluids. Biochemical Journ. **32**, 417 (1938).

King, E. J. und *McGeorge, M.* (ebenda): The biochemistry of silicic acid. VI. The solution and excretion of silica. Biochemical Journ. **32**, 426 (1938).

Kober, S. (Research Laboratories of N. V. Organon, Oss, Holland): The colorimetric estimation of the oestrogenic hormones. II. Oestrone. Biochemical Journ. **32**, 357 (1938).

Kuhn, R. und *Wendt, G.* (Kais. Wilh.-Inst. f. med. Forschung, Heidelberg, Inst. f. Chemie): Über das antidermatische Vitamin der Hefe. Ber. Dtsch. chem. Ges. **71**, 780 (1938). Zwei Mikrokristallbilder.

Lansing, A. I. (George Washington Univ., ?): Localisation of calcium in *Paramaecium caudatum*. Science **87**, 303 (1938).

Larson, C. E. und *Greenberg, D. M.* (Div. of Biochemistry, Univ. of Calif. Med. School, Berkeley, Calif.): The analysis of calcium in blood and other biological material by titration with ceric sulfate. Journ. biol. Chemistry **123**, 199 (1938).

Lauffer, M. A. und *Stanley, W. M.* (Dept. of Animal a. Plant Pathol. of the Rockefeller Inst. f. Med. Research, Princeton, N. J.): Stream double refraction of virus proteins. Journ. biol. Chemistry **123**, 507 (1938).

Leloir, L. F. und *Muñoz, J. M.* (Instituto de Fisiología, Facult. de Medicina, Buenos Aires): Ethyl alcohol metabolism in animal tissues. Biochemical Journ. **32**, 299 (1938).

Lemoigne, M., Monguillon, P. und *Désveaux, R.* (Lab. de chim. de l'Inst. agronomique, Paris): Oxygénation rapide de l'acide nitreux provoquée par l'acide ascorbique. Compt. rend. Soc. Biologie **127**, 411 (1938).

Lynen, F. (Chem. Lab. d. Bayr. Akad. Wiss., München): Das Virusproblem. Angew. Chem. **51**, 181 (1938). Übersicht.

Malloy, Helga T. und *Evelyn, K. A.* (Dept. of Med., Mc Gill Univ. Clinic, Roy. Victoria Hosp., Montreal, Canada): Oxidation method for bilirubin determinations in bile and meconium with the photoelectric colorimeter. Journ. biol. Chemistry **122**, 597 (1938).

Maschmann, E. (Biochem. Abt. d. Georg Speyer-Hauses, Frankfurt a. M.): Über Bakterienproteasen. III. Mitteilung. Die Proteasen des *B. perfringens*. Biochem. Ztschr. **295**, 351 (1938).

Mayrhofer, A. (Pharmakognost. Inst. d. Univ. Wien): Biochemische Studien über das Vorkommen kleiner Mengen von Jod und Fluor im Organismus. III. Biochem. Ztschr. **295**, 302 (1938).

Menaker, M. H. und *Guerrant, N. B.* (Dept. of Agric. a. Biol. Chem., The Pennsylvania State Coll., State Coll., Pa.): Standardization of 2,6-dichlorophenolindophenol. Ind. engin. Chem., Analyt. Ed. **10**, 25 (1938).

Mentzer, C. (Lab. de toxicol. de la Fac. de Pharmacie, Paris): Contribution à l'étude des phénomènes d'oxydo-réduction en biologie. 1. Procédés de dosage du glutathion et de la cystéine. Application aux organes et au sang. Journ. Pharmac. Chim. (8), **27**, 145 (1938).

Mindlin, R. L. und *Butler, A. M.* (Dept. of Pediatrics, Harvard Med. School; Infants' and Children's Hospitals, Boston): The determination of ascorbic acid in plasma; a macromethod and micromethod. Journ. biol. Chemistry **122**, 673 (1938).

Needham, J. (Vortrag in der gemeinsamen Versammlung der Niederl. Biochem. u. Anatom. Gesellschaft, Amsterdam): Biochemistry of morphogenetic hormones of organisers. Chem. Weekbl. **35**, 299 (1938). Enthält mikrochemische Angaben.

Neuweiler, W. (Univ.-Frauenklinik, Bern): Über den Gehalt der Frauenmilch an Vitamin B_1 und seine Beeinflußbarkeit durch die Ernährung. Klin. Wchschr. **17**, 296 (1938).

Neymark, M. (Med.-chem. Inst. d. Univ. Lund): Die Kinetik beim Umsatz von Normalpropyl- und Isopropylalkohol. Skand. Arch. Physiol. **78**, 243 (1938).

Philpot, J. St. L. und *Small, P. A.* (Dept. of Biochemistry, Oxford): The action of nitrous acid on pepsin. Biochemical Journ. **32**, 542 (1938).

Pijoan, M., Alexander, L. und *Wilson, A.* (Dept. of Surgery, Peter Bent Brigham Hosp.; Research Div., Boston State Hosp., Boston): Ascorbic acid in cerebrospinal fluid. Journ. clin. Invest. **17**, 169 (1938).

Randoin, L. (Lab. de physiol. de la nutrition de l'École des Hautes-Études et lab. de physiol. de M. *P. Portier*, Inst. océanographique): Dosage de la flavine dans quelques organes de cobayes normaux et scorbutiques. Compt. rend. Soc. Biologie **127**, 590 (1938).

Schlenk, W. jun. und *Kahmann, H.* (Chem. Inst. d. Univ. Berlin): Die chemische Zusammensetzung des Spermaliquors und ihre physiologische Bedeutung. Untersuchung am Forellensperma. Biochem. Ztschr. **295**, 283 (1938).

Schöberl, A. und *Rambacher, P.* (Chem. Inst. d. Univ. Würzburg): Über die kolorimetrische Bestimmung von Cystein und Cystin mit Phosphorwolframsäure. Biochem. Ztschr. **295**, 377 (1938).

Schoenheimer, R. und *Rittenberg, D.* (Dept. of biol. Chem., Columbia Univ., New York): The application of isotopes to the study of intermediary metabolism. Science **87**, 221 (1938). Übersicht.

Scholander, P. F. (Physiol. Inst., The Univ., Oslo, Norway): A modified manometric blood gas apparatus. Skand. Arch. Physiol. **78**, 145 (1938).

Schønheyder, F. (Hosp. of The Rockefeller Inst. f. Med. Research, New York): The formation of coproporphyrin I and hemoglobin during embryonic life. Journ. biol. Chemistry **123**, 491 (1938).

Schormüller, J. und *Mohr, H.* (Biol. Abt. des Reichsgesundheitsamtes, Berlin-Dahlem): Zur Kenntnis der Beeinflussung der stufenphotometrischen Kreatininbestimmung durch fremde Stoffe. Ztschr. Unters. Lebensmittel **75**, 97 (1938).

Suomalainen, P. (Lab. der Stiftung f. Chem. Forschung, Helsinki): Über den Winterschlaf des Igels. II. Mitteilung. Der Adrenalingehalt der Nebennieren. Biochem. Ztschr. **295**, 145 (1938).

Tompsett, S. L. (Biochem. Lab., Royal Infirmary, Glasgow): The determination of bismuth in biological materials. Analyst **63**, 250 (1938).

Vonk, H. J., Engel, Chr. und *Engel, C.* (Inst. f. vergl. Physiol. d. Reichsuniversität Utrecht): Kann durch gallensaure Salze gelöste Ölsäure durch Pergamentpapier diffundieren? Biochem. Ztschr. **295**, 171 (1938). Enthält Mikromethodisches.

Weil, H. (Med. Univ.-Klinik Freiburg i. Br.): Über Versuche zur quantitativen Siliciumbestimmung im menschlichen Blute mit der Emissionsspektralanalyse. Arch. exp. Pathol. Pharmakol. **188**, 377 (1938).

Wenig, K. und *Jírovec, O.* (Inst. f. allg. Zool. d. Karls-Univ., Prag): Über die polarographische Reaktion der mit ultravioletem Licht bestrahlten Eiweißstoffe. Biochem. Ztschr. **295**, 405 (1938).

Williams, H. W., Erickson, Betty N., Avrin, I., Bernstein, S. S. und *Macy, Icie G.* (Research Lab. of the Children's Fund of Michigan, Detroit, Mich.): Determination of cephalin in phospholipids by the estimation of choline. Journ. biol. Chemistry **123**, 111 (1938).

V. Medizinisch-chemische Methoden.[1]

Beerenblum, I. und *Chain, E.* (Sir William Dunn School of Pathology, Oxford): An improved method for the colorimetric determination of phosphate. Biochemical Journ. **32**, 295 (1938).

[1] *Durchgesehen werden*: Wien. klin. Wchschr.; Wien. med. Wchschr.; Klin. Wchschr.; Münch. med. Wchschr.; Dtsch. med. Wchschr.; alle unter IV angeführten Zeitschriften; siehe auch sinngemäß unter VI, VII, VIII, IX.

Cavett, J. W. (Lab. of Physiol. Chem., Univ. of Minnesota, Minneapolis, Minn.): The determination of alcohol in blood and other body fluids. Journ. Lab. clin. Med. **23**, 543 (1938).

Doble, J. und *Geiger, J. C.* (Dept. of Public Health, San Francisco, Calif.): The determination of para-amido-benzene sulfonamide (sulfanilamide) in urine and blood. Journ. Lab. clin. Med. **23**, 651 (1938).

Ettori, J. und *Grangaud, R.* (Lab. de chim. biol. de la Fac. de médecine et de pharmac., Alger): Sur la détermination du volume globulaire. Compt. rend. Soc. Biologie **127**, 532 (1938).

Fashena, Gladys J. (New York Hosp. and Dept. of Pediatrics, Cornell Univ. Med. Coll., New York City): A study of the blood iodine in childhood. Journ. clin. Invest. **17**, 179 (1938).

Gibson, J. G., 2nd und *Evelyn, K. A.* (Dept. of Med., Harvard Univ.; The Medical Clinic of the Peter Bent Brigham Hosp., Boston, Mass.; McGill Univ. Clinic, Royal Victoria Hosp., Montreal, Canada): Clinical studies of the blood volume. IV. Adaptation of the method to the photoelectric microcolorimeter. Journ. clin. Invest. **17**, 153 (1938).

Jendrassik, L. und *Grósz, P.* (Med. Klinik u. Physiol. Inst. d. königl. Erzsébet-Univ., Pécs, Ungarn): Verfahren zur photometrischen Bestimmung des Bilirubins im Harn. Biochem. Ztschr. **296**, 71 (1938).

Kohn-Abrest, E. (Lab. de Toxicol. de la Préfecture de Police, Paris): L'extraction des gaz et plus particulièrement des gaz du sang. Ann. Falsifications Fraudes **31**, 8 (1938). Halbmikromethode.

Krainick, H. G. (keine Ortsangabe): Bestimmung der Ketonkörper in kleinen Blutmengen. I. Mitteilung. Klin. Wchschr. **17**, 450 (1938).

Kühling, G. (Hautklinik d. Univ. Köln): Das Tetrachlorporphyrinhydrat. (Seine Haltbarkeit und Verwendbarkeit zur *quantitativen* Porphyrinbestimmung.) Klin. Wchschr. **17**, 417 (1938).

Malloy, Helga T. und *Evelyn, K. A.* (Dept. of Med., McGill Univ. Clinic, Roy. Victoria Hosp., Montreal, Canada): Oxidation method for bilirubin determinations in bile and meconium with the photoelectric colorimeter. Journ. biol. Chemistry **122**, 597 (1938).

Mindlin, R. L. und *Butler, A. M.* (Dept. of Pediatrics, Harvard Med. School, and the Infants' and Children's Hospitals, Boston): The determination of ascorbic acid in plasma; a macromethod and a micromethod. Journ. biol. Chemistry **122**, 673 (1938).

Müller, A. (Genf): Zur Natur der „grünen" Farbreaktion des Harnes mit Para-dimethyl-amino-benzaldehyd und die Bestimmung des Bilirubins und der Nitrite. Klin. Wchschr. **17**, 564 (1938).

Ritsert, K. (Forschgslab. d. Chem. Fabrik E. Merck, Darmstadt): Zur Aneurinbestimmung im Harn nach der *Jansen*schen Thiochrommethode. Dtsch. med. Wchschr. **64**, 481 (1938).

Schmidt, E. G. (Dept. of Biol. Chemistry, Univ. of Maryland, School of Med., Baltimore, Md.): The determination of sulfanilamide in cere-

brospinal fluid by means of sodium-β-naphthoquinone-4-sulfonate. Journ. Lab. clin. Med. **23**, 648 (1938).

Schmidt, E. G. (ebenda): The determination of sulfanilamide in tungstic acid blood filtrates by means of sodium-β-naphthoquinoline-4-sulfonate. Journ. biol. Chemistry **122**, 757 (1938).

Schulte, J. M. (Pharmaz. Kongreß, Groningen): Het aantoonen van pentamethyleentetrazol in urine en in bloed. Pharmac. Weekbl. **75**, 386 (1938).

Sheftel, A. G. (Los Angeles, Calif., Dept. of Pathol. of the Coll. of Med. Evangelists; Chem. Lab. of Los Angeles County Hosp.): A simple colorimetric method for determination of alcohol concentration in urine and blood. Journ. Lab. clin. Med. **23**, 534 (1938).

Sobel, A. E. und *Sklersky, S.* (Pediatric Research Laboratory and the Div. of Biochemistry, The Jewish Hosp. of Brooklyn, New York): A direct acidimetric microtitration method for calcium. Journ. biol. Chemistry **122**, 665 (1938).

West, R. und *Clarke, D. H.* (mit *Kennedy, E. M.*) (Dept. of Med., Coll. of Physicians a. Surgeons, Columbia Univ., Presbyterian Hosp., New York City): The concentration of glucosamine in normal and pathological sera. Journ. clin. Invest. **17**, 173 (1938).

VI. Pharmazie, Toxikologie, forensische Chemie; verwandte Gebiete.[1]

Bell, F. K. und *Krantz, J. C.* jun. (Dept. of Pharmacol., School of Med., Univ. of Maryland, Baltimore): The detection of carbon monoxide in medicinal oxygen. Journ. Amer. pharmac. Assoc. **27**, 118 (1938).

Böhme, H. und *Wagner, J.* (Pharmaz. Inst. d. Univ. Berlin): Zur Wertbestimmung von *Pericarpium Aurantii* und den daraus hergestellten galenischen Zubereitungen. Arch. Pharmaz. **275**, 242 (1938). Zum Teil mit Halbmikromengen.

Cheramy, P. und *Cliche, E.* (Lab. de Toxicol. de la Fac. de Pharm., Paris): Étude de la répartition érythro-plasmatique de quelques médicaments organiques. Journ. Pharmac. Chim. (8), **27**, 321 (1938).

Faure, A. und *Pallu* (Vorname fehlt) (keine Ortsangabe): Application des méthodes d'analyse capillaire à l'étude de certains corps gras. Ann. Falsifications Fraudes **31**, 13 (1938).

Franck, R. (Pharmaz.-chem. Inst. d. Univ. Königsberg i. Pr.): Chromatographische Adsorptionsanalyse in der Pharmazie. Ind. engin. Chem., Analyt. Ed. **10**, 125 (1938).

Fulton, Ch. C. (Alcohol Tax Unit, St. Paul Laboratory, St. Paul, Minn.): Crystal tests for minute amounts of morphine. Journ. Lab. clin. Med. **23**, 622 (1938).

Fulton, Ch. C. (ebenda): *Fröhde*'s reagent: A reagent for morphine and for other phenolic compounds. Journ. Lab. clin. Med. **23**, 625 (1938).

---

[1] *Durchgesehen werden*: Arch. Pharmaz.; Pharmaz. Zentralhalle; Pharmac. Weekbl.; außerdem sinngemäß unter I, II, IV, VI, VII.

Gaudy, F. und *Antola, P.* (Inst. de Chim., Département National d'Hygiène, Buenos Aires): Une sémi-microméthode pour le dosage rapide des composés de l'arsenic par colorimétrie. Journ. Pharmac. Chim. (8), **27**, 165 (1938).

Hinsberg, C. (Berlin): Blutalkoholbestimmung. Chem.-Ztg. **62**, 145 (1938). Übersicht.

Kratz, B. (mit *Plamböck, E.*) (Hess. Chem. Untersuchungsamt, Gießen): Versuche auf dem Gebiete der Blutalkohol-Bestimmung. Chem.-Ztg. **62**, 148 (1938).

Mayer, F. X. (Hyg. Inst. u. Inst. f. gerichtl. Med., Univ. Wien): Quantitative Bestimmung von Benzol in Blut und Organteilen auf spektralanalytischem Wege. Mikrochemie **24**, 29 (1938).

Micheel, F. und *Schmitz, H.* (Org. Abt. d. Chem. Inst. d. Univ. Münster i. W.): Zur Kenntnis der Schlangengifte (IV. Mitteilung). Ber. Dtsch. chem. Ges. **71**, 703 (1938).

Mosig, A. (Dresden): Übersicht der wichtigsten Methoden der Untersuchung und Wertbestimmung von Drogen. Pharmaz. Zentralhalle **79**, 35 (1938). Übersicht. Enthält auch Mikromethoden.

Neugebauer, H. und *Brunner, K.* (Wissensch. Abt. der Fa. Dr. Willmar Schwabe, Leipzig): Die chromatographische Adsorptionsanalyse in der homöopathischen Pharmazie. Pharmaz. Zentralhalle **79**, 161 (1938).

Pesez, M. (der Soc. de Pharmacie, Paris, vorgelegt): Sur quelques nouvelles réactions colorées des dérivés barbituriques. Journ. Pharmac. Chim. (8), **27**, 247 (1938).

Pesez, M. (ebenda vorgelegt): Sur deux nouveaux réactifs différentiels de la morphine et de l'oxydimorphine. Journ. Pharmac. Chim. (8), **27**, 255 (1938).

Rosenthaler, L. (Bern): Zum Nachweis des Arsens in organischen Arsenverbindungen. Pharmac. Acta Helv. **13**, 2 (1938).

Stadler, P. und *Wagner, K.* (Chem. Untersuchungsamt d. Stadt Pforzheim): Über den Nachweis von Aethylvanillin (Bourbonal). Ztschr. analyt. Chem. **111**, 391 (1938).

Stevens, Asa N. und *Hughes, E. J.* (Central Laboratories, Eli Lilly and Company, Chicago): Para-aminobenzenesulfonamide. Journ. Amer. pharmac. Assoc. **27**, 36 (1938).

Stock, A. und *Neuenschwander-Lemmer, Nelly* (Laboratorium *Stock*, Berlin-Dahlem): Die mikroanalytische Quecksilberbestimmung. (XXVII. Mitteilung über Wirkung und Verbreitung des Quecksilbers.) Ber. Dtsch. chem. Ges. **71**, 550 (1938).

Stoll, A. (Basel): Meldrøjens virksomme Indholdsstoffer (Vortrag). Dansk Tidsskr. Farmaci **12**, 1 (1938). Mikrokristallbilder.

Trappmann, W. (Mittelprüfstelle der Biol. Reichsanstalt, Berlin-Dahlem): Chemische Tagesfragen im Pflanzenschutz. Chem.-Ztg. **62**, 205 (1938).

Tropp, C. (Med. u. Nervenklinik Würzburg): Polarographische Untersuchungen über Insuline. Klin. Wchschr. **17**, 465 (1938).

VII. Pflanzenphysiologische Chemie; Agrikulturchemie; Nahrungsmittelchemie.[1]

Boysen Jensen, P. (Pflanzenphysiol. Lab. d. Univ. Kopenhagen): Erwiderung zu der Mitteilung von *H. v. Dücker*: Über die Berechnung von Assimilationswerten nach *Boysen Jensen*. Biochem. Ztschr. **295**, 427 (1938).

Cori, Gerty T., Colowick, S. P. und *Cori, C. F.* (Dept. of Pharmacol., Washington Univ. School of Med., St. Louis): The formation of glucose-1-phosphoric acid in extracts of mammalian tissues and of yeast. Journ. biol. Chemistry **123**, 375 (1938).

Engels, O. (Speyer a. Rh.): Spurenelemente und ihre Bedeutung für das Pflanzenwachstum. Chem.-Ztg. **62**, 165 (1938). Übersicht.

Fincke, H. und *Niemeyer, P.* (Chem. Lab. d. Gebr. Stollwerck A. G., Köln): Bemerkungen und Versuche zum Nachweis eines Lecithinzusatzes zu Kakaoerzeugnissen. Ztschr. Unters. Lebensmittel **75**, 320 (1938). Endbestimmung halbmikro- bis mikroanalytisch.

Fischer, W. (Prüfstelle f. Pflanzenschutzmittel d. Biol. Reichsanst., Berlin-Dahlem): Analyse von Pflanzenschutzmitteln. I. Dinitrokresol. Ztschr. analyt. Chem. **112**, 91 (1938).

Fortune, W. B. und *Mellon, M. G.* (Purdue Univ., Lafayette, Ind.): Determination of iron with o-phenanthroline. Ind. engin. Chem., Analyt. Ed. **10**, 60 (1938).

Goodhue, L. D. (Bur. of Entomology a. Plant Quarantine, U. S. Dept. of Agric., Washington, D. C.): Turbidimetric titration of small amounts of nicotine. Ind. engin. Chem., Analyt. Ed. **10**, 52 (1938).

Griebel, C., Schloemer, A. und *Zeglin, H.* (Preuß. Landesanstalt f. Lebensmittel-, Arzneimittel- u. gerichtl. Chem., Berlin): Fluorhaltige, gesundheitsschädliche Aprikosenpulpe. Ztschr. Unters. Lebensmittel **75**, 305 (1938).

Lauffer, M. A. und *Stanley, W. M.* (Dept. of Animal a. Plant Pathol. of the Rockefeller Inst. f. Med. Research, Princeton, N. J.): Stream double refraction of virus proteins. Journ. biol. Chemistry **123**, 507 (1938).

Lode, G. (Bundesanstalt f. Lebensmittelunters., Innsbruck): Zur Bestimmung des Molekulargewichtes höherer einbasischer Fettsäuren. Österr. Chemiker-Ztg. **41**, 95 (1938). Im Makro- bis Mikrobereich.

Lohwag, H. (keine Ortsangabe): Eiweißkristalle in den Gefäßen des Hausschwammes. Mikrochemie **24**, 4 (1938).

Lüers, H., Enders, C. und *Kärnbach, K.* (Wissensch. Station f. Brauerei, München): Über Wachstumshemmungen bei Hefe. Biochem. Ztschr. **296**, 47 (1938).

Lynen, F. (Chem. Lab. d. Bayr. Akad. Wiss., München): Das Virusproblem. Angew. Chem. **51**, 181 (1938). Übersicht.

[1] *Durchgesehen werden vor allem*: Mikrochemie; Angew. Chem.; Chem.-Ztg.; Österr. Chemiker-Ztg.; Ztschr. analyt. Chem.; Analyst; Ind. engin. Chem., Analyt. Ed.; Chem. Weekbl.; Ztschr. Unters. Lebensmittel; Mitt. Lebensmittelunters. Hygiene; siehe auch sinngemäß in den Abschnitten III, IV.

Manceau, P., Policard, A. A. und *Ferrand, M.* (Lab. de Matière médicale et de Biol. végétale de la Fac. mixte de Médecine et de Pharm., Lyon): Sur la production par deux espèces de „*Penicillium*" de substances réductrices analogues à l'acide ascorbique. Bull. Soc. Chim. biol. **20**, 82 (1938). Enthält eine modifizierte Ascorbinsäurebestimmungsmethode.

Perkins, A. E. (Ohio Agric. Exp. Station, Wooster, Ohio): Determination of ammonia and urea in milk. Ind. engin. Chem., Analyt. Ed. **10**, 69 (1938).

Perlman, J. L. (State Food Lab., Dept. of Agric. a. Markets, Albany, N. Y.): Rapid colorimetric determination of lead in maple sirup. Ind. engin. Chem., Analyt. Ed. **10**, 134 (1938).

Pucher, G. W., Curtis, L. C. und *Vickery, H. B.* (Depts. of Biochem. and of Genetics of the Connecticut Agric. Exp. Station, New Haven, Conn.): The red pigment of the root of the beet *(Beta vulgaris)*. I. The preparation of betanin. Journ. biol. Chemistry **123**, 61 (1938). Enthält eine Zuckerbestimmung in Halbmikromengen.

Pucher, G. W., Curtis, L. C. und *Vickery, H. B.* (ebenda): The red pigment of the root of the beet *(Beta vulgaris)*. II. A method to determine betanin. Journ. biol. Chemistry **123**, 71 (1938).

Rothenheim, C. A. (Bombay): Über den Vitamin-C-Gehalt indischer Nahrungsmittel. Chillies: *Capsicum*. Pharmac. Acta Helv. **13**, 19 (1938).

Rothenheim, C. A., Shaik Mahamud, H. S. und *Cowlagi, S. S.* (Cipla Laboratories Ltd., Calcutta): Vitamin C contents of Indian foodstuffs. Chillies (*Capsicum*). Journ. Indian chem. Soc. **15**, 14 (1938).

Schormüller, J. und *Mohr, H.* (Biol. Abt. des Reichsgesundheitsamtes, Berlin-Dahlem): Zur Kenntnis der Beeinflussung der stufenphotometrischen Kreatininbestimmung durch fremde Stoffe. Ztschr. Unters. Lebensmittel **75**, 97 (1938).

Taylor, A. L. und *Witte, P. J.* (Pease Laboratories, Inc., New York, N. Y.): Carotene in oranges. Ind. engin. Chem., Ind. Ed. **30**, 110 (1938).

Thaler, H. (Univ.-Inst. und Deutsche Forschungsanst. f. Lebensmittelchemie, München): Über den Nachweis der künstlichen Färbung der Butter mittels der chromatographischen Adsorptionsanalyse. Ztschr. Unters. Lebensmittel **75**, 130 (1938).

Trappmann, W. (Mittelprüfstelle der Biol. Reichsanstalt, Berlin-Dahlem): Chemische Tagesfragen im Pflanzenschutz. Chem.-Ztg. 62, 205 (1938).

van Itallie, L. (Leiden): Een reactie op vrije zwavel. Pharmac. Weekbl. **75**, 278 (1938). Auch für Mikromengen.

Vierhapper, F. (II. Chem. Inst. d. Univ. Wien): Neuere Ergebnisse chemischer Virusforschung. Österr. Chemiker-Ztg. **41**, 118 (1938). Übersicht. Ein Mikrokristallbild.

Wachholder, K. (mit *Heidinger, Elfriede, Grieben, Irene* und *Köhler, H.*): Über den Vitamin-C-Gehalt roher und verschieden zubereiteter Kartoffeln und über dessen ernährungsphysiologische Bedeutung. Biochem. Ztschr. **295**, 237 (1938). Enthält methodische Bemerkungen.

Wright, R. C. und *Anderson, E. B.* (United Dairies Ltd., Central Lab., Wood Lane, London W 12): A test for traces of oxidising agents in milk. Analyst **63**, 252 (1938).

VIII. Angewandte Chemie (technische Chemie, Mineralchemie usw.).[1]

Alber, H. K. und *Rodden, C. J.* (Washington Square Coll., New York Univ., New York): Microchemical analysis of colored specks and crystalline occlusions in soap bars. Ind. engin. Chem., Analyt. Ed. **10**, 47 (1938).

Bardet, J., Tchakirian, A. und *Lagrange, Raymonde* (vorgelegt von *Urbain, G.*): Recherche spectrographique des éléments existant à l'état de traces dans l'eau de mer. Compt. rend. Acad. Sciences **206**, 450 (1938).

Duffendack, O. S. und *Wolfe, R. A.* (Univ. of Michigan, Ann Arbor, Mich.): Analysis of caustic liquors for traces of impurities. Ind. engin. Chem., Analyt. Ed. **10**, 161 (1938).

Holaday, D. A. (Food a. Drug Administration, Washington, D. C.): Determination of Pyrethrin I in commercial insecticides containing pyrethrum or pyrethrum extract. Ind. engin. Chem., Analyt. Ed. **10**, 5 (1938). Endbestimmung halbmikrochemisch.

Jones, F. L. (Mellon Inst., Pittsburgh, Pa.): Determination of the size of fine abrasive powders. Ind. engin. Chem., Analyt. Ed. **10**, 45 (1938).

Klingstedt, F. W. (Holzchem. Inst. der Åbo Akademie, Finnland): Die Bestimmung des Schwefelgehaltes in organischen Stoffen. Ztschr. analyt. Chem. **112**, 101 (1938). Makro- bis halbmikroanalytisch.

Konstantinowa-Schlesinger, M. (Inst. de Physique *P. N. Lebedeff*, Acad. Sci. de l'URSS., Leningrad?): Dosage de l'ozone atmosphérique à l'altitude de 13 et 14 km. Compt. rend. Acad. Sciences de l'URSS. (Doklady) **18**, 337 (1938).

Kraus, R. (Verein f. chem. u. metallurg. Produktion, Werk Aussig a. Elbe, ČSR.): Über ein neues Gasspürgerät. I. Anzeige von Schwefelwasserstoff. Ztschr. analyt. Chem. **112**, 1 (1938).

Owens, J. S. (X-Ray and Spectroscopy Dept., The Chemical Comp., Midland, Mich.): Quantitative spectrochemical analysis. Chemical and metallurgical applications. Ind. engin. Chem., Analyt. Ed. **10**, 64 (1938). Zum Teil im Mikrogebiet.

Portevin, A. und *Leroy, A.* (vorgelegt von *Guillet, L.*): Méthodes de dosage sur microprélèvements et applications aux études métallurgiques. Compt. rend. Acad. Sciences **206**, 518 (1938).

Richter, M. und *Jaeschke, Marg.* (Deutsche Versuchsanst. f. Luftfahrt e. V., Berlin-Adlershof, Inst. f. Betriebsstofforschung): Verbesserungsvorschläge für die Elementarbestimmung von flüssigen Treibstoffen nach der Halbmikromethode. Angew. Chem. **51**, 147 (1938).

[1] *Durchgesehen werden vor allem*: Mikrochemie; Angew. Chem.; Chem.-Ztg.; Österr. Chemiker-Ztg.; Ztschr. analyt. Chem.; Analyst; Ind. engin. Chem., Analyt. Ed.; Chem. Weekbl.; Journ. Soc. chem. Ind. Japan; siehe auch sinngemäß in allen bisher angeführten Abschnitten (ausgenommen V, VI) und Abschnitt IX.

Siebeneck, H. (Berlin): Der Nachweis von Blei aus Aethylblei und Beobachtungen über die Flüchtigkeit des Bleitetraäthyls. Chem.-Ztg. **62**, 188 (1938).

Stoll, K. (Biolog. Forschungsanstalt Hiddensee): Kolorimetrische Phosphatbestimmung in trüben und kieselsäurereichen Wässern. Ztschr. analyt. Chem. **112**, 81 (1938).

Thomann, J. und *Kälin, A.* (Lab. des Eidgen. Armeeapothekers): Bestimmung kleiner Wassermengen mit der Destillationsmethode. Pharmac. Acta Helv. **13**, 24 (1938).

IX. Apparative Behelfe.[1]

Aluise, V. A. (Hercules Powder Comp., Experiment Station, Wilmington, Del.): Weighing tube for volatile liquids in carbon-hydrogen and *Dumas* nitrogen semimicrodeterminations. Ind. engin. Chem., Analyt. Ed. **10**, 56 (1938).

Blair, J. S. (Research Dept., American Can Comp., Maywood, Ill.): Fume tube for micro-*Kjeldahl* digestions. Ind. engin. Chem., Analyt. Ed. **10**, 112 (1938).

Hallett, L. T. (Eastman Kodak Co., Rochester, N. Y.): An electric furnace for automatic combustion in microelementary analysis. Ind. engin. Chem., Analyt. Ed. **10**, 101 (1938).

Hallett, L. T. (ebenda): Microdetermination of halogen by combustion. Ind. engin. Chem., Analyt. Ed. **10**, 111 (1938).

Hayman, D. F. (Merck & Co., Inc., Rahway, N. J.): Drying and weighing hygroscopic substances in microanalysis. Ind. engin. Chem., Analyt. Ed. **10**, 55 (1938).

Kinder, W. (keine Ortsangabe): Ein Mikrointerferometer nach *W. Linnik*, mit dem mikroskopische Unebenheiten an reflektierenden Oberflächen sichtbar gemacht und ausgemessen werden können. Zeiß-Nachr. **2**, 91 (1937); durch Chem. Fabrik **11**, 145 (1938).

Levatinsky, P. (Dept. of Biol. Chem., Tufts Coll. Med. School, Boston, Mass.): A stirring device for use in microtitrations. Journ. Lab. clin. Med. **23**, 532 (1938).

Messer, F. C. (John C. Oliver Memorial Research Lab., St. Margaret Memorial Hosp., Pittsburgh): A microconstant extraction apparatus for liquids. Journ. Lab. clin. Med. **23**, 618 (1938).

Peterson, J. B. und *Schoeffel, E. W.* (Chem. Lab. of the Amer. Med. Assoc., Chicago, Ill.): The microchemical laboratory of the American Medical Association. Ind. engin. Chem., Analyt. Ed. **10**, 173 (1938).

Siebert, H. und *Langer, T.* (Kais. Wilh.-Inst. f. physik. Chem. u. Elektrochemie, Berlin-Dahlem): Über die Anwendung neuer Capillaren in der Polarographie. Chem. Fabrik **11**, 141 (1938).

---

[1] *Durchgesehen werden vor allem*: Angew. Chem.; Chem.-Ztg.; Ztschr. analyt. Chem.; Analyst; Ind. engin. Chem., Analyt. Ed.; Journ. Lab. clin. Med.; siehe auch sinngemäß in allen angeführten Abschnitten.

Mitteilungen aus mikrochemischen Gesellschaften.

Microchemical Section, American Chemical Society.

Dallas, Texas, April 18 to 22, 1938.

W. R. Kirner, Chairman; *L. P. Hallett*, Secretary;
C. H. Richter, Local Assistant.

I. B. Johns, Iowa State College: "Improved absorption apparatus for the carbon-hydrogen-analysis."

New absorption tubes for the C-H analysis have been developed that are made of Pyrex glass and are closed by small ball valves enclosed within the tubes at each end. Rotating the tubes 180° from the closed position allows the balls to fall away slightly from their seats against the outer walls of the tubes. In this position the resistance to air flow is negligible.

The absorbents used are ascarite and anhydrous calcium sulfate. The preparation of the calcium sulfate granules is described. The advantages of anhydrous calcium sulfate over calcium chloride are: first, its greater effectiveness; second, the fact that it never becomes wet and consequently never clogs the tubes; and third, the ease with which it can be regenerated.

A method of wiping the absorption tubes is described which eliminates the electrification so easily developed on Pyrex glass.

Sherman D. Lesesne and *H. L. Lochte*, University of Texas: "A new type of semi-micro fractionating column."

A new type of fractionating column combining high efficiency with low tendency to slugging and large per cent through put per hour is described. The column proper consists of 6-mm. inner diameter tubing in which a 4-mm. metal band is hung and rotated at about 1000 r. p. m.

Harold A. Frediani, Louisiana State University: "The microscopical determination of potassium."

The use of naphthol-yellow-S as a reagent for the microscopical determination of potassium has been investigated. Potassium yields with the reagent solution characteristically needle-like fibers appearing either singly or in clumps. Ammonium, cesium, lithium, magnesium, and sodium ions do not react with the reagent to form insoluble crystalline salts. Cupric, lead, rubidium, and silver ions form precipitates that may mask the presence of potassium. The minimum potassium ion concentration required for a suitable test is 7,5 mg. per ml.

It is further believed that the reagent may be used advantageously in the distinction between rubidium and cesium.

Arthur C. Shead, University of Oklahoma: "Profile angular constants in the conclusive identification of substances. II. I Octagons of cinchophen. Hydrochloride hydrate and $Ag_2Cr_2O_7$."

Further direct experiments on an essentially two-dimensional system of crystallography, adapted to the special needs of analytical chemistry, tend to strengthen the theory that profile angular constants measured, in order, on plane geometrical forms, particularly the octagon, of special types of flat tabular crystals, produced by known reagents under controlled conditions as previously specified by *Shead*,[1] are of distinct diagnostic value when considered in the same category as other physical constants and used with them, as well as with chemical corroboration, in the identification of substances. Ordinarily, the octagon is the most complex form encountered in actual practice, and the directions of its sides fix, positively, the patterns, of all simpler related crystalline forms which are thus easily derived from the octagon by the prolongation of certain of its sides, in the given plane thus established.

Among other forms, the octagons of cinchophen (2-phenyl, 4-carboxyquinoline) hydrochloride hydrate, and silver dichromate were prepared and measured in order. The first deposited on spontaneous cooling from hot concentrated HCl to which a small amount of water was added, if necessary to produce a suitable crystalline hydrate. If colloidal trichites form, the solution is reheated until these just dissolve. The second compound was crystallized from a hot 1 : 1 HNO_3 solution in which $AgNO_3$ and excess CrO_3 interact. The subsided crystals are washed by decantation with alcohol to remove excess CrO_3.

Octagon I Angles	A	B	C	D	E	F	G	H	Sum
Cinchophen HCl	128,9	142,8	141,3	126,8	128,8	143,3	141,3	125,8	1079,0°
$Ag_2Cr_2O_7$	136,5	135,1	133,9	134,9	136,1	134,6	133,8	134,7	1079,6°

Roughly approximated, the precision is $\frac{\text{Theoretical Sum} - \text{Actual Sum}}{\text{Number of Angles}}$.

A. P. Brown[2] discusses precision at length and gives a figure of ten minutes, 10′.

E. W. D. Huffman, University of Colorado: "A new microchemical method for the determination of sulfur in organic compounds."

When the oxides of sulfur, in the presence of oxygen, are brought in contact with silver at temperatures around 400° C. silver sulfate is formed. On the basis of this reaction with a subsequent electrometric determination of the silver from the silver sulfate, a new micromethod for the determination of sulfur has been devised. The factor is, S : 2 Ag.

The organic compound may contain nitrogen as well as O, H, C, S. It is burned in a slow stream of oxygen over platinum contacts. The silver is used in the form of small dense beads of about 1-mm. diameter. These are placed in the tube in boats made of 80-mesh platinum gauze.

Ammonium hydroxide (1 : 1) is used as the solvent for the silver sulfate. Small amounts of acetic acid and acetonitrile are added to the washings and the silver is electroplated on a platinum gauze electrode.

The details of the apparatus and procedure and a discussion of the errors in the method are given.

[1] *A. C. Shead*: Ind. engin. Chem., Analyt. Ed. 9, 496 (1937).

[2] *E. T. Reichert* and *A. P. Brown*: Publication No. 116, Carnegie Inst. of Wash., p. 145.

W. R. Kirner, Carnegie Institute of Technology: "The mechanism of the absorption of oxides of nitrogen by lead peroxide in microcombustion."

To determine the mechanism of the absorption of oxides of nitrogen by lead peroxide a quantitative study has been made of the reaction of nitric oxide, and also nitrogen dioxide, with lead peroxide under conditions similar to those existing in catalytic microcombustions. This was done in the first case by sweeping a known weight of nitric oxide mixed with nitrogen through a heated combustion tube, containing only a palladium-asbestos catalyst filling, and then through a weighed microabsorption tube filled with lead peroxide and maintained at a temperature of 185° C. In the second case the nitric oxide was swept through the apparatus with oxygen; the nitrogen dioxide formed then passed through the heated combustion tube and into the absorption tube. After each passage the increase in weight of the absorption tube was determined.

In the nitric oxide experiments it was found that the weight of nitric oxide absorbed in succeeding experiments gradually increased up to a practically constant value which was finally about 65 per cent of that added. In the nitrogen dioxide experiments a practically constant weight was absorbed in all experiments which corresponded to about 85 per cent of that added. Hypotheses are advanced to explain the respective behaviour of these gases under the given conditions.

On the basis of these experiments, equations are suggested for the mechanism of absorption of these oxides of nitrogen by lead peroxide and the present results are compared with those obtained by previous investigators who have studied these reactions. The apparatus used will be illustrated and the data presented in tabular form.

"Informal discussion of microchemical technic."

Societas Mikrochimica Č. S. R.

Herr Prof. Dr. *Jaroslav Heyrovský*, Prag, Karls-Universität, hielt am 26. IV. 1938 in einer gemeinsamen Sitzung der Societas Mikrochemica Č. S. R. und der Chemischen Gesellschaft an der deutschen technischen Hochschule in Brünn den Vortrag: „Die Anwendung der Polarographie in der Mikroanalyse".

Am 4. V. 1938 hielt Herr Oberst *Max Haitinger*, Wien, in Prag im Rahmen der Societas Mikrochemica Č. S. R. einen Vortrag: „Methoden und Anwendungsbeispiele der Fluorescenzanalyse", den er am 5. V. 1938 in der Tschechoslowakischen Biologischen Gesellschaft in Prag wiederholte. Denselben Vortrag hielt er am 6. V. 1938 auf gemeinsame Einladung der Societas Mikrochemica Č. S. R. und der Tschechoslowakischen Biologischen Gesellschaft in Brünn.

Herausgeber, Eigentümer und Verleger: Julius Springer, Wien I, Schottengasse 4. — Verantwortliche Schriftleiter: Dr. *Friedrich Hecht*, Wien IX, Währingerstr. 38 und Prof. Dr. *Richard Wasicky*, Wien IX, Währingerstr. 25. — Druck: Manzsche Buchdruckerei, Wien IX, Lustkandlgasse 52.